

เปรียบเทียบการจัดสารไซโตคายน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมโคอะฟิลเตรชั่น
และวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน

นาย วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARISON OF CYTOKINE CLEARANCE BETWEEN ON-LINE HEMODIAFILTRATION AND
HIGH-FLUX HEMODIALYSIS IN SEPSIS-RELATED ACUTE KIDNEY INJURY PATIENTS

Mr. Wiwat Chanchaoenthana

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ เปรียบเทียบการขจัดสารไซโตคายน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบ
ออนไลน์ฮีโมโคอะฟิลเตรชัน และวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง
ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

โดย นาย วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ

สาขา อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีระธนากุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติสร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ชีระพงษ์ ตันทวีเชียร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีระธนากุล)

.....กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์ ณัฐ พสุธารชาติ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(พันตำรวจเอก นายแพทย์ ธนิต จิรนนท์ธวัช)

วิวัฒน์ จันทร์เจริญฐานะ : เปรียบเทียบการจัดสารไซโตไคน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน (COMPARISON OF CYTOKINE CLEARANCE BETWEEN ON-LINE HEMODIAFILTRATION AND HIGH-FLUX HEMODIALYSIS IN SEPSIS-RELATED ACUTE KIDNEY INJURY PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : นายแพทย์ ขจร ตรีธรรมานกุล. 95 หน้า.

ที่มา: การกำจัดสารไซโตไคน์ที่มีประสิทธิภาพสามารถลดอัตราการเสียชีวิตในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน ซึ่งตามทฤษฎีแล้วการฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงที่อาศัยกระบวนการฟอกเลือดร่วมกันน่าจะมียุทธศาสตร์ในการกำจัดสารไซโตไคน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง การวิจัยเชิงทดลองนี้ศึกษาเพื่อหาค่าร้อยละของการลดลงของสาร interleukin (IL)-18 และ vascular endothelial growth factor (VEGF) ก่อนและหลังฟอกเลือด และอัตราการกำจัดของสารในเลือดระหว่างการฟอกเลือดทั้งสองวิธี

วิธีการศึกษา: ผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน และจำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือดจำนวน 28 ราย ได้รับการสุ่มคัดเลือกเข้ารับการฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงจำนวน 14 รายเท่ากัน ผู้วิจัยเก็บข้อมูลระหว่างการฟอกเลือดเพื่อหาค่าร้อยละของการลดลงของสาร IL-18 และ VEGF ก่อนและหลังฟอกเลือด อัตราการกำจัดของสารในเลือด และค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับความดันโลหิตของทั้งสองกลุ่ม

ผลการศึกษา: การฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสาร IL-18 ทั้งค่าร้อยละของการลดลงของสาร (-8.1 ± 0.5 เทียบกับ 1.9 ± 0.5 ตามลำดับ, $p=0.348$) อัตราการกำจัดของสารในเลือด (20.2 ± 0.5 เทียบกับ 23.8 ± 8.61 ตามลำดับ, $p=0.348$) และอัตราการกำจัดของสารในน้ำที่ได้ออกจากการฟอกเลือด (1.4 ± 0.5 เทียบกับ 1.6 ± 0.5 , ตามลำดับ, $p=0.812$) อย่างไรก็ตาม พบว่าการฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสมีการกำจัดสาร VEGF ได้มากกว่าวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง ทั้งค่าร้อยละของการลดลงของสาร (52.6 ± 47.6 เทียบกับ 11.7 ± 0.1 , $p=0.000$) และอัตราการกำจัดของสารในเลือด (138.3 ± 118.2 เทียบกับ 80.4 ± 57.1 , $p=0.022$) เมื่อเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับความดันโลหิตระหว่างการฟอกเลือด พบว่าการฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสไม่แตกต่างจากวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความดันโลหิตซิสโตลิก 90.4 ± 14.1 และ 74.9 ± 20.8 มม.ปรอท ตามลำดับ ($p=0.095$) และค่าความดันโลหิตไดแอสโตลิก 54.0 ± 14.6 และ 43.0 ± 11.9 มม.ปรอท ตามลำดับ ($p=0.101$) ทั้งนี้ พบว่าการฟอกเลือดด้วยวิธีออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 35.7 ในขณะที่วิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 21.4

สรุปผลการศึกษา: การฟอกเลือดแบบออนไลน์ ฮีโมไดอะลิซิส ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน มีการกำจัดสาร VEGF ได้มากกว่าการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง ในขณะที่การกำจัดสาร IL-18 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการฟอกเลือดทั้งสองวิธี

ภาควิชาอายุรศาสตร์.....
สาขาวิชาอายุรศาสตร์.....
ปีการศึกษา2553.....

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

5274816630 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : ON-LINE HEMODIAFILTRATION / HIGH-FLUX HEMODIALYSIS / ACUTE KIDNEY INJURY / CYTOKINES

WIWAT CHANCHAROENTHANA : COMPARISON OF CYTOKINE CLEARANCE BETWEEN ON-LINE HEMODIAFILTRATION AND HIGH-FLUX HEMODIALYSIS IN SEPSIS-RELATED ACUTE KIDNEY INJURY PATIENTS. THESIS ADVISOR : KHAJOHN TIRANATHANAGUL, M.D., CO-ADVISOR : PAWEENA SUSANTITAPHONG, M.D., 95 pp.

Background: Effective removal of pro-inflammatory cytokines has been reported to improve overall mortality rate in sepsis-related acute kidney injury (AKI) patients. Theoretically, on-line hemodiafiltration (ol-HDF) which combines convective and diffusive solute removal in a single therapy seems to provide superior cytokine clearance over high-flux hemodialysis (HD). This prospective clinical trial was conducted to determine the percentage reduction and cytokine clearance of plasma interleukin (IL)-18 and vascular endothelial growth factor (VEGF) between ol-HDF and high-flux HD in critically ill sepsis-related AKI patients.

Methods: Twenty eight sepsis-related AKI patients were included and randomized into each modality, ol-HDF (n=14) and high-flux HD (n=14). The percentage reduction and clearance of plasma IL-18 and VEGF as well as intradialytic blood pressure were determined during the first 4-hour dialysis session.

Results: There were no differences between ol-HDF and high-flux HD in percentage reduction (-8.1±0.5 vs. 1.9±0.5, respectively, $p=0.348$), blood clearance (20.2±0.5 vs. 23.8±8.61, respectively, $p=0.348$) and dialysate clearance (1.4±0.5 vs. 1.6±0.5, respectively, $p=0.812$) of IL-18. However, both therapies could reduce VEGF levels when compared with baseline. This study was revealed that ol-HDF not only provided significantly percentage reduction of VEGF than high-flux HD (52.6±47.6 vs. 11.7±0.1, $p=0.000$) but also provided greater plasma clearance of VEGF than high-flux HD (138.3±118.2 vs. 80.4±57.1, $p=0.022$). There were no significant differences in intradialytic systolic blood pressure (90.4±14.1 vs. 74.9±20.8 mmHg in ol-HDF and high-flux HD, respectively, $p=0.095$), diastolic blood pressure (54.0±14.6 vs. 43.0±11.9 mmHg in ol-HDF and high-flux HD, respectively, $p=0.101$) and mortality rate between the two treatments (35.7% in ol-HDF and 21.4% in high-flux HD).

Conclusion: On-line hemodiafiltration in sepsis-related AKI could provide better removal of VEGF with comparable IL-18 cytokine clearance when compared with high-flux HD.

Department.....Medicine..... Student's Signature

Field of StudyMedicine..... Advisor's Signature

Academic Year ...2010.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านดังต่อไปนี้ ที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี
อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีระธนากุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลักงานวิจัย
ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เอี่ยมอ่อง หัวหน้าสาขาวิชาโรคไต และอาจารย์สาขาวิชา
โรคไตทุกท่าน ที่ให้แนวทาง คำชี้แนะ ข้อแก้ไข และติดตามผลการศึกษาในการทำงานวิจัยตลอดมา
แพทย์หญิง ชนิกา กุลภัทรธาดา ที่ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจตลอดช่วงเวลาที่ทำงานวิจัย
เพื่อนแพทย์ประจำบ้านต่อยอดวิชาโรคไต ที่ช่วยดูแลผู้ป่วยแทนผู้วิจัยในช่วงเวลาที่ต้อง
ทำงานวิจัย
พยาบาลหน่วยไตเทียม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโรคไต โรงพยาบาล
จุฬาลงกรณ์
เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ HLA สภากาชาดไทย ที่ให้ความเอื้อเฟื้อในด้านสถานที่ห้องปฏิบัติการ
เครื่องมือ ตลอดจนคำแนะนำในการทำปฏิบัติการ
ผู้ป่วยและญาติทุกท่าน ที่เข้าร่วมงานวิจัย และให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี ส่งผลให้งานวิจัยนี้
สำเร็จลุล่วงไปได้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
สารบัญแผนภูมิรูปภาพ.....	ฎ
สารบัญแผนภูมิกราฟ.....	ฏ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 สมมติฐาน.....	3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.6 วิธีดำเนินการวิจัย.....	4
1.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม.....	4
1.8 ข้อจำกัดของการวิจัย.....	5
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	39
3.1 รูปแบบการวิจัย.....	39
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	39

	หน้า
3.3 การดำเนินการวิจัย.....	41
3.4 การรวบรวมข้อมูล.....	51
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	51
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	52
บทที่ 5 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	62
รายการอ้างอิง.....	67
ภาคผนวก.....	81
ภาคผนวก ก.....	82
ภาคผนวก ข.....	87
ภาคผนวก ค.....	91
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	95

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarker) และ สาเหตุการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน	2
ตารางที่ 2.1 แสดงการจำแนกระดับภาวะไตวายฉับพลันตาม AKIN (AKIN classification).....	8
ตารางที่ 2.2 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการรักษาทดแทนไต ในการศึกษา BEST Kidney study ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อและ ไม่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด.....	16
ตารางที่ 2.3 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบรูปแบบของการฟอกเลือดที่ใช้เป็นประจำในผู้ป่วย ภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด.....	21
ตารางที่ 2.4 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดระหว่างการฟอกเลือดแบบ intermittent hemodialysis และ hemofiltration.....	23
ตารางที่ 2.5 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบรูปแบบการรักษาทดแทนไตแต่ละชนิด.....	24
ตารางที่ 2.6 แสดงขอบเขตของการใช้สารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายฉับพลัน.....	29
ตารางที่ 2.7 แสดงสารไซโตคัยน์ที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด.....	31
ตารางที่ 2.8 แสดงสารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarkers) ของการทำงานของไต ที่สำคัญต่างๆ.....	35
ตารางที่ 3.1 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดตาม SCCM/ ESICM/ ACCP/ ATS/ SIS International Sepsis Definitions Conference.....	39
ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย.....	54
ตารางที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงและร้อยละของการลดลงของระดับสารไซโตคัยน์ IL-18, VEGF, CRP, ยูเรีย และฟอสเฟตตามระยะเวลาการฟอกเลือด.....	56
ตารางที่ 4.3 แสดงอัตราการขจัดสารไซโตคัยน์ IL-18 และ VEGF ในกระแสเลือด (plasma clearance) และในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (dialysate clearance).....	57

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงการจำแนกระดับภาวะไตวายเฉียบพลันตาม RIFLE (RIFLE classification).....	7
รูปที่ 2.2 แสดงพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดภาวะไตวายเฉียบพลันจากการขาดเลือด.....	8
รูปที่ 2.3 แสดงกลไกการเกิด endothelial activation และ coagulation abnormality.....	9
รูปที่ 2.4 แสดงการสร้างไซโตไคน์ผ่าน lipopolysaccharide (LPS) และ Toll-like receptor (TLR) 4.....	12
รูปที่ 2.5 แสดงถ่วงสมดุลย์ทางระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย.....	17
รูปที่ 2.6 แสดงการจัดสรรตัวกลางตามสมมติฐาน the peak concentration hypothesis.....	18
รูปที่ 2.7 แสดงการจัดสรรตัวกลางตามสมมติฐาน the threshold immunomodulation hypothesis.....	19
รูปที่ 2.8 แสดงการจัดสรรตัวกลางตามสมมติฐาน the mediator delivery hypothesis.....	20
รูปที่ 2.9 แสดงการตอบสนองทางชีววิทยาต่อการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration.....	26
รูปที่ 2.10 แสดงบริเวณของหน่วยไตที่หลังสารที่เป็นสารวินิจฉัยทางชีวภาพในภาวะบาดเจ็บ ของไต.....	28
รูปที่ 2.11 แสดงการสร้าง IFN- γ จาก IL-18 และ IL-12.....	33
รูปที่ 3.1 แสดงการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration รูปแบบการเติมน้ำ ทดแทนน้ำตัวกรอง (predilution on-line hemodiafiltration).....	43
รูปที่ 3.2 แสดงการตรวจระดับ IL-18 ในเลือดโดยวิธี ELISA.....	46
รูปที่ 3.3 แสดงการเจือจางสารละลาย working standard.....	48

สารบัญแผนภูมิรูปภาพ

	หน้า
แผนภูมิรูปภาพที่ 1.1 แสดงกรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
แผนภูมิรูปภาพที่ 2.1 แสดงสารไซโตคายน์แบ่งตามกลุ่ม pro-inflammatory และ anti-inflammatory และขนาดโมเลกุล.....	30
แผนภูมิรูปภาพที่ 3.1 แสดงวิธีการวิจัย.....	42
แผนภูมิรูปภาพที่ 4.1 แสดงผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	52
แผนภูมิรูปภาพที่ 5.1 แสดงสารไซโตคายน์ที่มีขนาดโมเลกุลมากกว่า IL-18 ที่ควรมีการทำ การวิจัยเพิ่มเติม แบ่งตามกลุ่ม pro-inflammatory และ anti-inflammatory และขนาดโมเลกุล.....	66

สารบัญแผนภูมิกราฟ

	หน้า
แผนภูมิกราฟที่ 2.1 แสดงลักษณะกราฟ inverted Kaplan-Meier การฟื้นตัวของไตจาก ภาวะฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องที่ดีกว่าเมื่อ เปรียบเทียบกับวิธีการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องในผู้ป่วยภาวะ ไตวายเฉียบพลัน.....	16
แผนภูมิกราฟที่ 3.1 แสดงตัวอย่างกราฟมาตรฐานของการวัด IL-18.....	46
แผนภูมิกราฟที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับสารไซโตไคน์ interleukin-18 ตามระยะเวลาการฟอกเลือด.....	56
แผนภูมิกราฟที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับสาร VEGF ตามระยะเวลา การฟอกเลือด.....	58
แผนภูมิกราฟที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับสารไซโตไคน์ C-reactive protein ตามระยะเวลาการฟอกเลือด.....	59
แผนภูมิกราฟที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับฟอสเฟตตามระยะเวลาการฟอกเลือด.....	59
แผนภูมิกราฟที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีผลต่อ การฟื้นตัวของการทำงานของไต.....	61
แผนภูมิกราฟที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีต่อ อัตราการเสียชีวิต.....	61

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Ag II	Angiotensin II
AKI	Acute kidney injury
AKIN	Acute kidney injury network
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II
ARF	Acute renal failure
ATN	Acute tubular necrosis
BEST Kidney	the Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) study
CARS	Compensatory anti-inflammatory response syndrome
CAVH	Continuous arteriovenous hemofiltration
CAVHD	Continuous arteriovenous hemodialysis
CAVHDF	Continuous arteriovenous hemodiafiltration
CCr	Creatinine clearance
CHFD	Continuous high-flux dialysis
CPFA	Coupled plasmafiltration and adsorption
CRP	C-reactive protein
CRRT	Continuous renal replacement therapy
CVVH	Continuous venovenous hemofiltration
CVVHD	Continuous venovenous hemofiltration with dialysis
CVVHDF	Continuous venovenous hemodiafiltration
Cyr-61	Cystein-rich protein-61
DIC	Disseminated intravascular coagulation
ECR	Extracorporeal removal

GFR	Glomerular filtration rate
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
HD	Hemodialysis
HDF	Hemodiafiltration
HF	Hemofiltration
HPHF	High-permeability hemofiltration
HVHF	High-volume hemofiltration
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
ICE	Interleukin-1 β -converting enzyme
IFN	Interferon
IHD	Intermittent hemodialysis
IL	Interleukin
IL-18BP	IL-18 binding protein
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
K	Clearance
KIM-1	Kidney injury molecule-1
LPS	Lipopolysaccharide
MAP	Mean arterial pressure
MCP	Monocyte chemoattractant protein
MDF	Myodepressant factor
MIF	Macrophage inhibiting factor
MOSF	Multiple-organ system failure
mTAL	Medullary thick ascending limb of Henle loop
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NOS	Nitric oxide synthase
PAF	Platelet-activating factor

PAI-1	Platelet-activating inhibitor-1
PGE2	Prostaglandin E2
POWESS	the Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis study
P _F	Plasma filtration flow
Q _B	Blood flow rate
Q _D	Dialysate flow rate
Q _{UF}	Ultrafiltrate flow rate
rAPC	recombinant activated protein C
RBF	Renal blood flow
RIFLE	Risk, Injury, Failure, Loss of function, End stage kidney disease
ROS	Reactive oxygen species
RRT	Renal replacement therapy
SCUF	Slow continuous ultrafiltration
SHFHF	Super-high-flux hemofiltration
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TAX ₂	Thromboxane A ₂
TNF	Tumor necrosis factor
TNFR-I, II	Tumor necrosis factor receptors I, II
TGF	Transforming growth factor
TLR	Toll-like receptor
TPE	Therapeutic plasma exchange
VCAM-1	Vasocellular adhesion molecule-1
VEGF	Vascular endothelial growth factor

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

ในปัจจุบันภาวะไตวายฉับพลันและการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นภาวะที่พบร่วมกันได้บ่อย ภาวะดังกล่าวมีอัตราการเกิดภาวะทุพพลภาพและการเสียชีวิตที่สูง เชื่อว่าสารไซโตไคน์ (cytokines) ซึ่งร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อ เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญที่ทำให้การดำเนินโรคแย่ลง การฟอกเลือดด้วยวิธี conventional hemodialysis ไม่สามารถขจัดสารดังกล่าวออกจากเลือดที่ใช้ตัวกรองประสิทธิภาพสูง (high-flux dialyzer)[1,2]

การพัฒนาวิธีการฟอกเลือดจากวิธี hemodialysis เป็นวิธี hemodiafiltration [1-3] โดยใช้ตัวกรองประสิทธิภาพสูง (high-flux dialyzer) และมีการให้สารน้ำทดแทน (substitute fluid) ผ่านเข้าสู่ผู้ป่วยโดยตรงทางอุปกรณ์ฟอกเลือด อาศัยหลักการทำงานที่ประกอบด้วยกระบวนการแพร่ (diffusion) ที่คล้ายคลึงกับการฟอกเลือดวิธี hemodialysis และกระบวนการพา (convection) ส่งผลให้การฟอกเลือดวิธี hemodiafiltration มีประสิทธิภาพในการขจัดของเสีย (uremic toxins) เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะการขจัดสารของเสียโมเลกุลใหญ่ เช่น สารเบต้าทูไมโครโกลบูลิน (β_2 microglobulin) เป็นต้น

ที่ผ่านมามีการศึกษาเปรียบเทียบด้านความปลอดภัยของการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration โดยศึกษาคุณภาพของน้ำจาก on-line substitute fluid ที่ผ่านตัวกรอง (dialysate filters) ไม่พบว่ามีภาวะเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา วัดค่าเอนโดทอกซิน (endotoxin) ได้น้อยกว่า 0.01 EU.ต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำน้ำจากการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration ไปทำปฏิกิริยา (incubate) กับเซลล์โมโนไซต์ (monocytes) พบว่ามีกระบวนการสร้างสารไซโตไคน์ไม่แตกต่างจากน้ำบริสุทธิ์ (sterile fluid) จากถุงบรรจุสำเร็จรูป เมื่อติดตามผู้ป่วยจำนวน 13 รายที่ได้รับการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration นานเฉลี่ย 26 เดือน รวมได้รับ on-line substitute มากกว่า 100,000 ลิตร ไม่พบว่ามีผู้ป่วยที่เกิดปฏิกิริยาไข้ (pyrogenic reaction) จึงสรุปได้ว่าการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีความปลอดภัยเทียบเท่ากับน้ำบริสุทธิ์จากถุงบรรจุสำเร็จรูป [4]

Interleukin-18 (IL-18) และ vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็นสารที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อภาวะไตวายฉับพลันจากการติดเชื้อในกระแสเลือด [5,6] ตารางที่ 1.1 โดยเฉพาะ IL-18 ยังเป็นสารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarker) ที่ไวและเป็นตัว

พยากรณ์โรค (prognostic marker) ที่ดีมากของภาวะไตวายเฉียบพลัน [7-9] ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการขจัดสาร IL-18 และ VEGF ระหว่างวิธีการฟอกเลือดทั้งสองวิธีในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยเชื่อว่าการขจัดสารดังกล่าวออกจากร่างกายอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพจะส่งผลให้การดำเนินโรคของภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดดีขึ้น ลดอัตราการเกิดภาวะทุพพลภาพและการเสียชีวิตในที่สุด

ตารางที่ 1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างสารวินิจฉัยทางชีวภาพ(biomarker) และสาเหตุการเกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน [10]

BIOMARKER(S)	ASSOCIATED RENAL INJURY
Cystatin C	Proximal tubular injury
KIM-1	Ischemia and nephrotoxins
NGAL (lipocalin)	Ischemia and nephrotoxins
NHE3	Ischemia, pre-renal, post-renal AKI
Cytokines (IL-18)	Toxic, sepsis, delayed graft function
L-FABP	Ischemia and nephrotoxin
Netrin-1	Ischemia and nephrotoxins, sepsis
Keratin-derived chemokine	Ischemia and delayed graft function
VEGF	Ischemia and sepsis

1.2 คำถามการวิจัย (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

การขจัดสาร IL-18 ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยวิธีฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีความแตกต่างจากการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis หรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

การขจัดสาร VEGF และการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตระหว่างการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis มีความแตกต่างกันหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

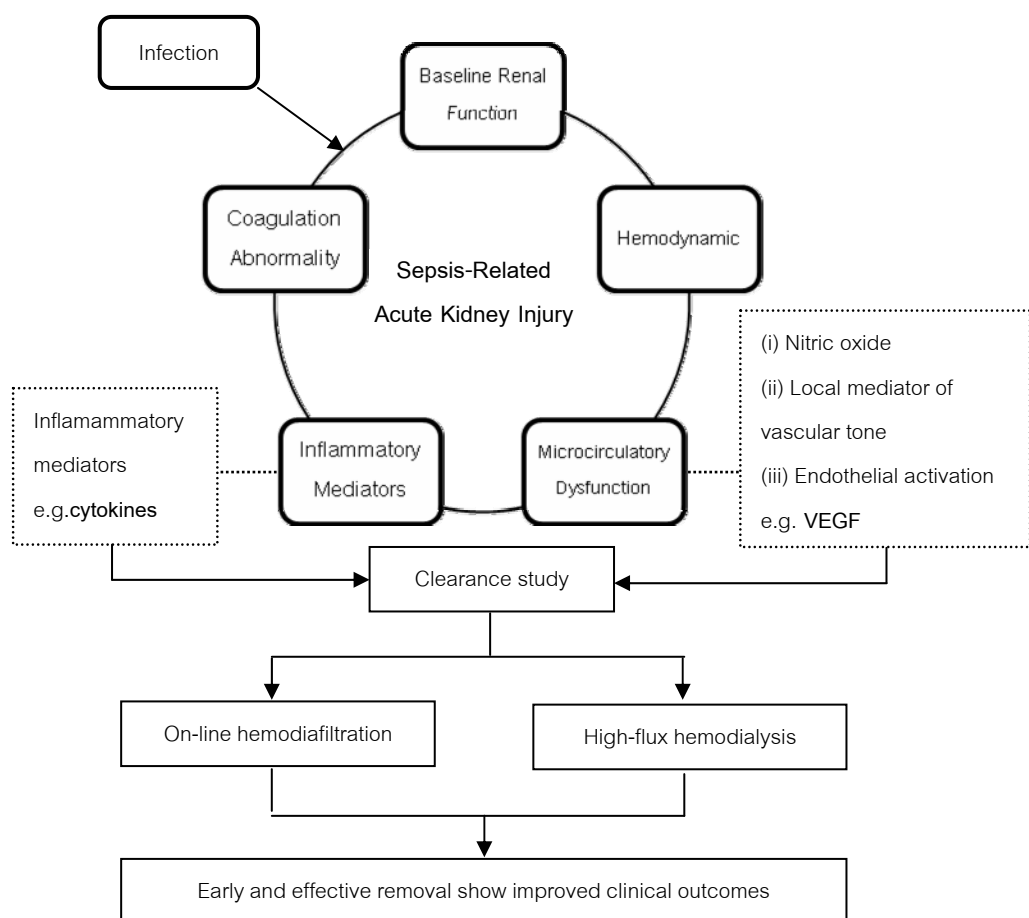
1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดสาร IL-18 ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยวิธีฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดสาร VEGF ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตระหว่างการฟอกเลือดด้วยวิธีฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

ประสิทธิภาพการกำจัดสาร IL-18 และ VEGF ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยวิธีฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีมากกว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



แผนภูมิที่ 1.1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

1.6 วิธีการดำเนินการวิจัย

1.6.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

Prospective, (block of four) randomized clinical trial

1.6.2 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ (Intervention)

1. คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากผู้ป่วยในของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งใช้เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดตาม International Sepsis Definitions Conference ร่วมกับมีภาวะไตวายฉับพลันที่จำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent hemodialysis) โดยใช้นิยามภาวะไตวายฉับพลัน RIFLE criteria ที่ระดับความรุนแรง F (failure)

2. สุ่มเลือกกลุ่มตัวอย่างตามแบบแผน block of four randomization เพื่อแบ่งประชากรออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ได้รับการรักษาตามมาตรฐานด้วยวิธีฟอกเลือดแบบวิธี high-flux hemodialysis (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration (กลุ่ม intervention)

3. เปรียบเทียบการขจัดสาร IL-18 และ VEGF จากการฟอกเลือดในประชากรทั้งสองกลุ่มในรูปของ clearance study โดยการเก็บตัวอย่างเลือดก่อนและหลังการฟอกเลือด และเก็บตัวอย่างน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (effluent) ตรวจสอบระดับความเข้มข้นของสาร คำนวณเป็นอัตราการขจัดสาร (clearance rate) ของวิธีการฟอกเลือดทั้งสองวิธี

4. วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

1.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม (Ethical Considerations)

- การให้ข้อมูลจนผู้ป่วยหรือญาติเข้าใจเป็นอย่างดีและตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย

- การได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (Informed consent)

- ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา รวมถึงประวัติที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยจะถูกเก็บรักษาเป็นความลับ โดยคำนึงถึงสิทธิของผู้ป่วยเป็นสำคัญ และการนำเสนอผลการวิจัย จะเป็นภาพรวมของการศึกษาทั้งหมด ไม่ได้เป็นข้อมูลนำเสนอรายบุคคล และแบบบันทึกข้อมูลไม่มีข้อมูลที่สามารถระบุถึงตัวผู้ป่วย

- การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่ทำในผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องด้วยวิธีการฟอกเลือด on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis ซึ่งการฟอกเลือดทั้ง 2 วิธีนี้เป็นรูปแบบการฟอกเลือดที่มีการใช้อยู่แล้วเป็นประจำของการฟอกเลือดใน

ผู้ป่วยที่มีภาวะไตเรื้อรังของหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ภายใต้การดูแลอย่างใกล้ชิดของแพทย์และพยาบาลที่มีความชำนาญ รวมทั้งที่ผ่านมายังไม่มีรายงานการเกิดภาวะแทรกซ้อนใดๆ ต่อผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีดังกล่าว ซึ่งทางหน่วยโรคไตมีการตรวจความบริสุทธิ์ของน้ำเป็นประจำทุกเดือน เพื่อให้มีความปลอดภัยกับผู้ป่วยมากที่สุด แต่หากมีความผิดปกติใด ๆ ซึ่งเกิดจากการฟอกเลือด ทางผู้วิจัยจะให้การดูแลรักษาผู้เข้าร่วมวิจัยอย่างใกล้ชิดและรับผิดชอบค่าใช้จ่าย

- วิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis เป็นวิธีการฟอกเลือดที่สามารถขจัดสารไซโตคายน์ที่ดีทั้งสองวิธี ซึ่งสารไซโตคายน์เป็นสารที่มีอยู่มากและมีบทบาทสำคัญที่ทำให้การดำเนินโรคในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดแย่ลง

1.8 ข้อจำกัดของการวิจัย (Limitation)

ผลการศึกษาที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถประยุกต์ใช้ได้เพียงกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง เนื่องจากผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายซับซ้อนร่วมด้วย ที่สามารถรับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องที่ห้องไตเทียมได้นั้น ส่วนหนึ่งต้องมีสภาวะทั่วไปของร่างกายและโรคที่ไม่รุนแรงมาก

ผู้ป่วยที่เป็นกลุ่มประชากรตัวอย่างทุกคนเป็นผู้ป่วยในของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (Expected Benefits and Application)

ผลที่คาดว่าจะผู้ป่วยจะได้รับ

เพิ่มประสิทธิภาพในการดูแลการรักษาภาวะไตวายซับซ้อนที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด

ผลที่คาดว่าจะบุคลากรจะได้รับ

ได้ความรู้ ความชำนาญจากการรักษาด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration และวิธี high-flux hemodialysis ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายซับซ้อน

บทที่ 2

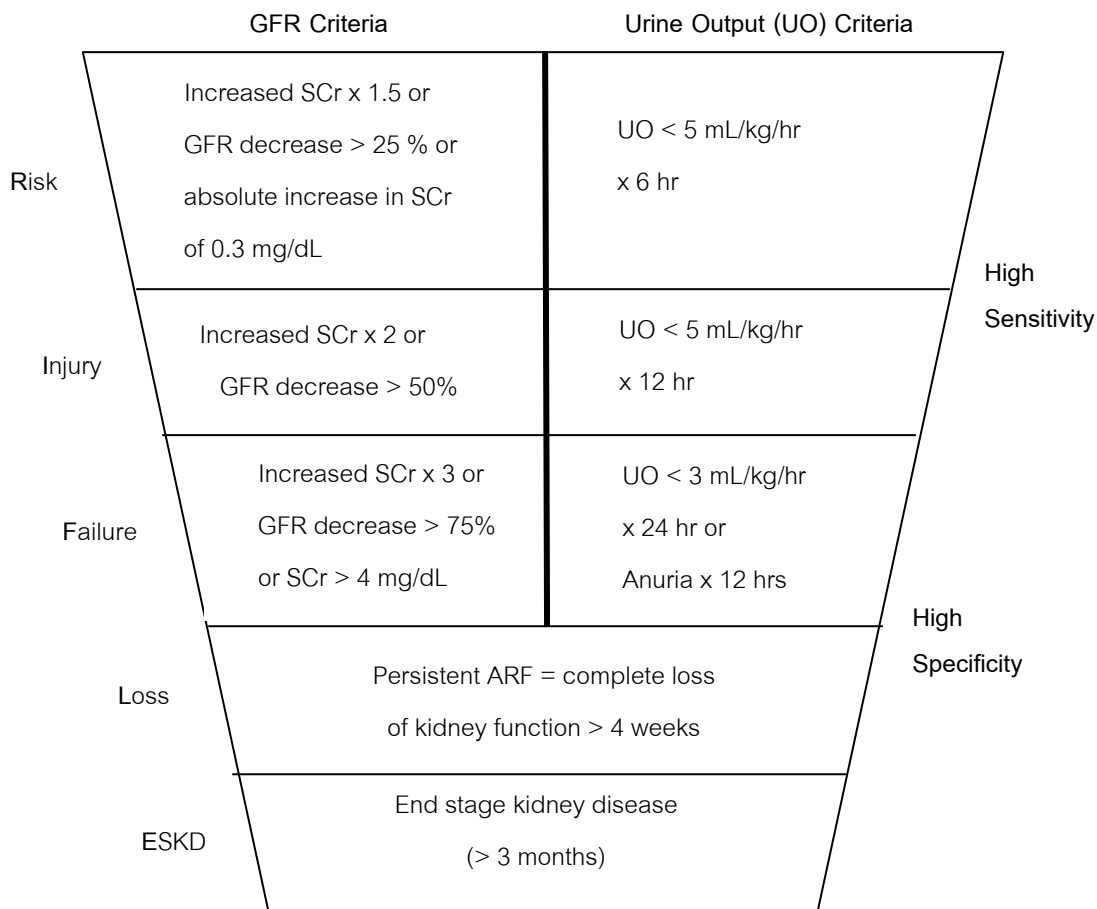
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ภาวะไตวายฉับพลัน (acute kidney injury; AKI) เป็นภาวะที่พบได้บ่อย และมีอุบัติการณ์เพิ่มสูงขึ้นในทศวรรษที่ผ่านมา [11,12] ประมาณร้อยละ 5 ถึง 20 ของผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตจะมีภาวะไตวายฉับพลัน โดยร้อยละ 4.9 จำเป็นต้องได้รับการรักษาทดแทนไต (renal replacement therapy) จัดเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีอัตราการเสียชีวิตสูงมากกว่าร้อยละ 50 ทั้งนี้ สาเหตุหลักของการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน ได้แก่ ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด ภาวะขาดเลือด และการเกิดภาวะไตวายจากสารหรือยาต่างๆ เป็นต้น

ในปัจจุบันมีการแบ่งภาวะไตวายฉับพลันตามอัตราการกรองของไต (glomerular filtration rate, GFR) ที่ลดลงอย่างรวดเร็วในระยะเวลาเป็นชั่วโมงหรือวัน [13,14] เรียกว่า RIFLE criteria

รูปที่ 2.1 การทำงานของไตที่ลดลงหรือการเพิ่มขึ้นของระดับครีเอตินีน (creatinine) ในเลือดที่มากกว่าร้อยละ 50 จากระดับพื้นฐานถือว่าเป็นนิยามของภาวะไตวายฉับพลัน [14,15] แบ่ง RIFLE criteria ออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่ (1) risk; (2) injury; (3) failure; (4) loss of function; และ (5) end stage kidney disease และมีการเสนอให้ใช้คำว่า AKI แทน ARF (acute renal failure) ทั้งนี้ ให้ใช้คำว่า ARF ในผู้ป่วยไตวายฉับพลันที่จำเป็นต้องได้รับการรักษาทดแทนไตเท่านั้น [13-15] อย่างไรก็ตาม ในทางเวชปฏิบัติยังคงใช้คำว่า AKI และ ARF แทนภาวะไตวายฉับพลันในความหมายที่ใกล้เคียงกัน ถึงแม้ว่า RIFLE criteria จะมีความเที่ยงตรง (validity) ที่ดี และได้รับการยอมรับจากอายุรแพทย์ทั่วโลก แต่ในระยะต่อมาก็มีผู้เสนอให้ใช้ AKIN แทน RIFLE criteria [16]

ตารางที่ 2.1 ในการแบ่งระยะภาวะไตวายฉับพลันเพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ของ RIFLE criteria โดยแนะนำให้ใช้ค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับครีเอตินีนในเลือดเพียง 0.3 มิลลิกรัม/ เดซิลิตร เป็น AKI ระยะที่ 1 (เทียบเท่ากับ RIFLE-risk) [16] นอกจากนี้ ใน AKIN criteria ยังใช้ระยะเวลาที่ 48 ชั่วโมงเป็นข้อกำหนดว่าเป็น AKI (เปรียบเทียบกับใน RIFLE criteria ที่ใช้ระยะเวลา 1-7 วัน) และจัดให้การได้รับการรักษาทดแทนไตเป็น AKI ระยะที่ 3 (เทียบเท่ากับ RIFLE-failure) ซึ่งในการวิจัยนี้จะใช้ข้อกำหนด RIFLE criteria เป็นหลัก



รูปที่ 2.1 การจำแนกระดับภาวะไตวายเฉียบพลันตาม RIFLE (RIFLE classification)

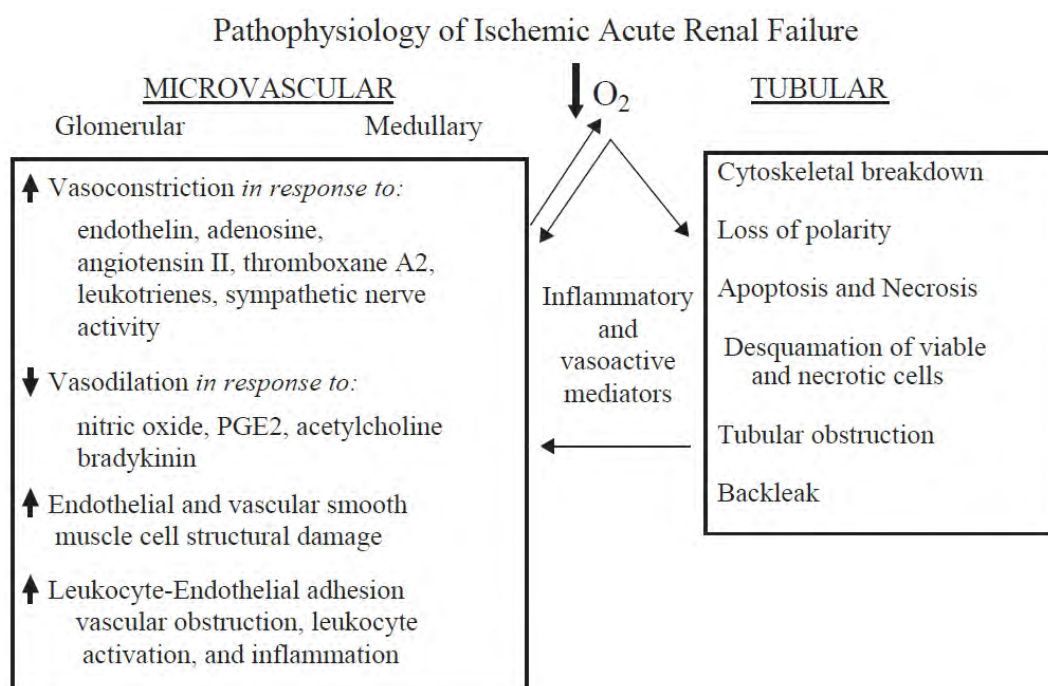
2.1 ผลของภาวะติดเชื้ในกระแสเลือดที่มีต่อไต

ภาวะติดเชื้ในกระแสเลือดจะส่งผลให้ GFR ลดลง และมีภาวะ oliguria เกิดขึ้นจากการบาดเจ็บต่อเซลล์เยื่อ tubular หรือจากภาวะ acute tubular necrosis (ATN) รูปที่ 2.2 ซึ่งมีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากภาวะการขาดเลือด และการทำลายเซลล์เยื่อ tubular โดยเฉพาะบริเวณ S3 segment และ medullary thick ascending limb (mTAL) ที่เป็นบริเวณที่เซลล์มีความต้องการพลังงานสูง สมมติฐานว่าภาวะการขาดเลือดดังกล่าวจะนำไปสู่การสูญเสียประจุของเซลล์ (cellular polarity) และมีการทำลายของเยื่อส่วน typical brush border ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนของสาร solute และ water transport กลไกทั้งหมดนี้ส่งผลรวมต่อการเปลี่ยนแปลงของ adhesion molecule (integrins) และเกิดการแยกตัวของเยื่อเซลล์จาก basement membrane นอกจากนี้ เยื่อเซลล์ที่หลุดลอกเข้าสู่ tubular lumen จะรวมตัวกับ cellular debris และโปรตีน

Tamm-Horsfall ทำให้เกิดการสร้าง cast จนอาจมีการอุดตันเกิดขึ้น และส่งผลต่อการทำงานของไตให้ลดลงมากขึ้น [17]

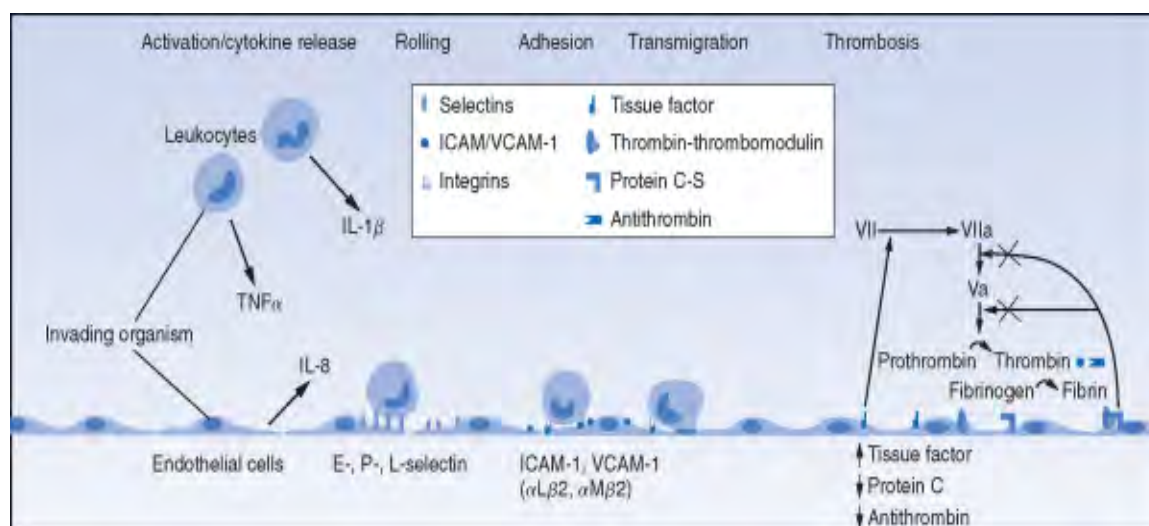
ตารางที่ 2.1 การจำแนกระดับภาวะไตวายฉับพลันตาม AKIN (AKIN classification)

Stage	Kidney function	Urine output
Stage 1	Increase in serum creatinine ≥ 0.3 mg/dL or increase to ≥ 150 -199% (1.5- to 1.9-fold) from baseline	< 0.5 mL/kg/h for ≥ 6 h
Stage 2	Increase in serum creatinine to 200-299% (>2 - to 2.9-fold) from baseline	< 0.5 mL/kg/h for ≥ 12 h
Stage 3	Increase in serum creatinine to $\geq 300\%$ (≥ 3 -fold) from baseline or serum creatinine ≥ 4 mg/dL with an acute rise of at least 0.5 mg/dL or initiation of RRT	< 0.3 mL/kg/h ≥ 24 h or anuria ≥ 12 h



รูปที่ 2.2 พยาธิสรีรวิทยาของการเกิดภาวะไตวายฉับพลันจากการขาดเลือด [18]

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันเชื่อว่าภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดส่งผลต่อไตผ่านกลไกทางพยาธิสรีรวิทยาหลัก คือ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงไต (hemodynamics) ร่วมกับการสูญเสียกลไก autoregulatory pathways เกิด endothelial dysfunction, coagulation abnormality และ systemic inflammation โดยการกระตุ้นการสร้างสารไซโตคายน์, immune cell recruitment และเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ procoagulant state [19] **รูปที่ 2.3** รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงกระบวนการ oxidation-reduction และ catabolic-anabolic activity จนเมื่อเกิดมีการทำงานของไตลดลงก็จะส่งผลให้เกิดการเสียสมดุลของน้ำและเกลือแร่ การขจัดสารของเสียลดลง และเกิดเลือดทำงานผิดปกติตามมา



รูปที่ 2.3 กลไกการเกิด endothelial activation และ coagulation abnormality

(ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; VCAM-1, vasocellular adhesion molecule-1; IL-1 β , interleukin-1 β ; TNF- α , tumor necrosis factor- α .)

สภาพแวดล้อมของไตขณะที่เกิดภาวะไตวายเฉียบพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด (sepsis-related acute renal failure) นั้นจะสัมพันธ์กับ (1) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงไต (hemodynamics), (2) ความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็ก (microcirculatory dysfunction), (3) ความผิดปกติของกระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation abnormality) และ (4) การอักเสบและการตาย (inflammation and apoptosis)

2.1.1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงไต

2.1.1.1 การเปลี่ยนแปลงของ intrarenal hemodynamics

ภาวะความดันโลหิตต่ำทำให้เกิด autoregulation ของ hemodynamics ในไต หลอดเลือด afferent arteriolar จะหดตัวส่งผลให้เกิดการลดลงของ capillary hydrostatic pressure และจำกัด perfusion ของ capillary beds ทำให้เกิดการลดลงของ filtration surface และเกิดกระบวนการ reabsorption ของ interstitial fluid เข้าสู่ capillaries ตามมา นอกจากนี้ ผลจากการเพิ่มขึ้นของของเสียจะทำให้ extracellular osmolality เพิ่มขึ้นจนเกิดการเคลื่อนของน้ำออกจากเซลล์ (extravasation)

2.1.1.2 ยากระตุ้นความดันโลหิต (vasopressor) และภาวะไตวายฉับพลัน

ในขณะที่เกิด hypodynamic septic shock ร่างกายจะไม่สามารถเพิ่ม systemic vascular resistance ชดเชยได้ ส่งผลให้เกิด pressor desensitivity และ refractory hypotension จนไม่สามารถเกิด autoregulation ในอวัยวะสำคัญได้ การใช้ vasopressor จะทำให้เกิด systemic vasoconstriction จนร่างกายสามารถคงระดับความดันโลหิตที่สูงพอให้เลือดไปเลี้ยงอวัยวะสำคัญต่างๆ ที่ในร่างกายได้ รวมทั้งการเพิ่มปริมาณเลือดไปเลี้ยงที่ไต (renal blood flow; RBF) [20]

2.1.2 ความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็ก (microcirculatory dysfunction)

2.1.2.1 ไนตริกออกไซด์ ซินเทส (nitric oxide synthase; NOS)

ในภาวะที่ไตขาดเลือดจะมีการ redistribution ของ RBF จากบริเวณ cortex ให้ไปยังบริเวณ medulla มากขึ้น เพื่อรักษาสมดุลย์ของระดับออกซิเจนในเนื้อเยื่อบริเวณ renal parenchyma ไว้ ร่วมกับมีการลดการทำงานของ tubule ลง การ redistribution ของเลือดดังกล่าวส่งผลให้มีการสร้างสารไนตริกออกไซด์บริเวณ medulla [21] ผ่านกลไกการสร้างเอนไซม์ inducible nitric oxide synthase (iNOS) ที่ถูกกระตุ้นโดยไซโตคายน์ชนิด pro-inflammatory, tumor necrosis factor (TNF) และ interleukin (IL)-1 รวมทั้งสาร endotoxins ต่างๆ [22] ทั้งนี้ จากการศึกษาพบว่าการยับยั้งเอนไซม์ NOS จะลด RBF ในขณะที่ความดันโลหิต mean arterial pressure (MAP) เพิ่มขึ้น ทำให้สมมติฐานว่า iNOS อาจมีบทบาทในการรักษาสมดุลย์ของ RBF ในระหว่างที่ร่างกายมีภาวะความดันโลหิตต่ำจากการทำให้มีการขยายตัวของหลอดเลือด afferent arteriole อย่างไรก็ตาม ในความเป็นจริงสามารถพบมีภาวะการหดตัวของหลอดเลือดที่ไต (renal vasoconstriction) ได้ ทั้งๆ ที่มีการสร้างเอนไซม์ iNOS เนื่องจากผลของเอนไซม์ iNOS อาจน้อยกว่าผลรวมจากภาวะ systemic vasodilatation ที่ทำให้เกิด renal vasoconstriction ไม่ได้

การยับยั้งเอนไซม์ NOS จะสัมพันธ์กับการเกิด glomerular thrombosis และการลดลงของ creatinine clearance (CCr) โดยเชื่อว่าสัมพันธ์กับคุณสมบัติ antithrombosis ของเอนไซม์ NOS ที่ไปยับยั้งปฏิกิริยาระหว่างเม็ดเลือดขาวและเซลล์ endothelium รวมทั้งยับยั้งกลไกการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) [23]

2.1.2.2 การสร้างสารสื่อกลาง (soluble and local mediators)

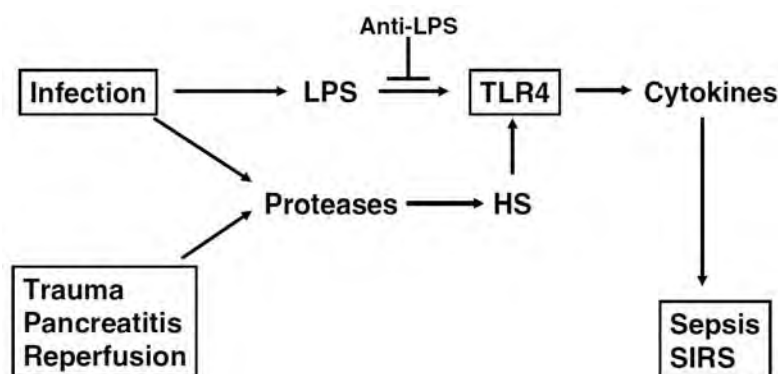
Endothelins เป็น potent vasoconstrictor ที่สร้างโดยเซลล์ endothelium, mesangium และ tubule ผ่านการกระตุ้นของสารไซโตคายน์กลุ่ม pro-inflammatory ต่างๆ เช่น TNF, IL, vasopressin และ angiotensin II (AngII) เป็นต้น endothelins ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด afferent และ efferent arteriole รวมทั้งการเกิดการหดตัวของเซลล์ mesangium อย่างมาก ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการสร้าง platelet-activating factor (PAF) และ thromboxane A₂ (TXA₂) ใน mesangium และ endothelium ตามลำดับ นอกจากนี้ endothelins ยังสร้างสารที่ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ได้แก่ prostacyclin, ไนตริก ออกไซด์ (NO) และ prostaglandin E₂ เป็นต้น [18]

ไซโตคายน์ เมื่อมีการติดเชื้อในกระแสเลือดจะมีการกระตุ้นการสร้างสารไซโตคายน์ผ่าน lipopolysaccharide (LPS) ที่จะไปรวมตัว และกระตุ้น Toll-like receptor (TLR) 4 ตามลำดับ [24,25] **รูปที่ 2.4** การสร้างสารไซโตคายน์ชนิด cellular และ humoral ของร่างกายในภาวะที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือดนี้ เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการดำเนินงานของอวัยวะต่างๆ ในร่างกายแฉ่งลง (cytokine-mediated injury) รวมทั้งการทำงานของไตด้วย พบว่าเซลล์ mesangium มีบทบาทในการสร้างสารไซโตคายน์กลุ่ม pro-inflammatory ต่างๆ ได้แก่ IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF และ PAF เป็นต้น เช่นเดียวกับเซลล์ tubule ที่สามารถสร้างสารไซโตคายน์ต่างๆ ได้หลังถูกกระตุ้นด้วย LPS [26] นอกจากนี้ ยังพบว่า LPS สามารถกระตุ้น PAF, endothelin-1 และ iNOS ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิด vascular resistance และการบาดเจ็บของ endothelium ทำให้การทำงานของไตและ RBF ลดลงมากกว่าเดิมจนเกิดมีภาวะ oliguria ได้ในที่สุด [22]

2.1.2.3 การกระตุ้น endothelium

การกระตุ้น endothelium เกิดจากสารไซโตคายน์ในกระแสเลือดและ activated complement ซึ่งเป็นกลไกหลักในการเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด การเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของ endothelium นี้จะเป็นวงจรกลับไปทำให้มีการสร้างสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (inflammatory mediators) เพิ่มขึ้น การกระตุ้น endothelium นี้เป็นการตอบสนองต่อเชื้อ pathogen ของร่างกายที่เกิดขึ้นในระยะแรก ทำให้มีการเหนี่ยวนำ activated

และ adherent neutrophils เข้ามาบริเวณที่มีการอักเสบและติดเชื้อ ซึ่งถ้าหากมีการกระตุ้นของ endothelium นานๆ จะส่งผลให้เกิด endothelial dysfunction มีการสร้างสาร vascular endothelial growth factor (VEGF) เพิ่มมากขึ้น และเกิดการสูญเสีย vascular permeability และมี capillary leakage ตามมา [18] **รูปที่ 2.3**



รูปที่ 2.4 การสร้างไซโตคายน์ผ่าน lipopolysaccharide (LPS) และ Toll-like receptor (TLR) 4

2.1.3 ความผิดปกติของกระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation abnormality)

ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับหลอดเลือดของไตในภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด นอกจากเกิดจากการ infiltration ของ mononuclear cell จนเกิดมี microvascular thrombosis แล้ว พบว่าการเกิดการสะสมของ fibrin ในหลอดเลือด capillaries ของ glomerulus สามารถทำให้เกิด thrombosis ได้เช่นกัน [27] โดยความผิดปกติดังกล่าวยังมีปัจจัยส่งเสริมให้เกิดขึ้นง่ายขึ้นจากการเสียสมดุลของ endogenous anticoagulant pathways ซึ่งประกอบด้วย heparin, antithrombin-tissue factor inhibitor และ protein C อีกด้วย [28] **รูปที่ 2.3**

2.1.4 การอักเสบและการตายของเซลล์ (inflammation and apoptosis)

เมื่อมีการติดเชื้อในกระแสเลือด ร่างกายจะเกิดการตอบสนองโดยการสร้างสารไซโตคายน์ ทั้งกลุ่ม pro- และ anti-inflammatory ขึ้น ผลจากการศึกษาพบว่าการเพิ่มขึ้นของสารไซโตคายน์เหล่านี้สัมพันธ์กับอัตราการเกิดทุพพลภาพและเสียชีวิต [29] และมีหลักฐานพบว่าการทำให้ระดับความเข้มข้นของสารไซโตคายน์ในกระแสเลือดลดลง สัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาใน the Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) พบว่าหลังการให้ recombinant activated protein C (rAPC) ทำให้ระดับความเข้มข้นของ IL-6 ในกระแสเลือดลดลง สัมพันธ์กับอัตราการตายที่ลดลง [30]

เช่นเดียวกับการศึกษาใน the Acute Respiratory Distress Clinical Syndrome Clinical Trials Network ระดับความเข้มข้นของ IL-6, IL-8 และ IL-10 ในกระแสเลือดที่ลดลงสัมพันธ์กับ low tidal volume ventilation setting และ nonpulmonary organ failure ที่น้อยลง [31] อย่างไรก็ตาม ผลจากทั้งสองการศึกษานั้นไม่ได้เป็น primary outcome ของการศึกษา

ระดับของสารไซโตคายน์ในกระแสเลือดมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการตายของเซลล์ (apoptosis) การศึกษาในสัตว์ทดลองของ Imai และคณะ [32] พบว่าระดับความเข้มข้นของ IL-8 ในกระแสเลือดที่สูงสัมพันธ์กับการตายของเซลล์เยื่อ tubule ของไตในหนูที่ให้การช่วยหายใจแบบ “lung-injurious” ventilation strategy เทียบกับหนูที่ได้รับการช่วยหายใจแบบ “conventional” ventilation strategy และพบว่าทำให้ antibody ต่อ Fas ligand ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการเกิดการตายของเซลล์จะทำให้เซลล์เยื่อ tubule ตายลดลง ทำให้สรุปได้ว่าระดับความเข้มข้นของ IL ในกระแสเลือดที่สูงสัมพันธ์กับการตายของเซลล์ และ Fas ligand มีบทบาทสำคัญในการเกิดการตายของเซลล์ใน AKI

2.2 การฟื้นตัวของภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด

ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดในปัจจุบันว่า ภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือดนั้นมีระยะการฟื้นตัว (recovery phase) อย่างไร ในอดีตเชื่อว่าผู้ป่วยที่รอดชีวิตจากการติดเชื้อรุนแรงหรือภาวะ multiple-organ system failure (MOSF) นั้น การทำงานของไตจะกลับเป็นปกติ แต่จากการศึกษาพบว่า ร้อยละ 40 ของผู้ป่วยกลุ่มนี้ จะมีการทำงานของไตลดลงอย่างถาวรเมื่อออกจากโรงพยาบาล และจำนวนผู้ป่วยกว่าร้อยละ 14 จำเป็นต้องได้รับการรักษาทดแทนไตเมื่อออกจากโรงพยาบาล [33]

อาการแสดงที่บ่งบอกถึงภาวะฟื้นตัวของไตในผู้ป่วยไตวายกลุ่มนี้คล้ายคลึงกับการฟื้นตัวของภาวะไตวายฉับพลันจากสาเหตุอื่น โดยผู้ป่วยจะมีปริมาณปัสสาวะที่เพิ่มมากขึ้น การเปลี่ยนระดับจุลพยาธิสภาพพบมีการซ่อมแซมของเซลล์ tubule เรียกระยะนี้ว่า cellular dedifferentiation state นอกจากนี้ ในระยะนี้จะมีการแสดงออกของ epithelial cell precursors มากมายเหมือนภาวะ organogenesis (phylogeny recapitulating ontogeny) อื่นๆ ร่วมกับการเกิด cellular proliferation, migration และ differentiation เพื่อซ่อมแซมส่วนที่เกิดการบาดเจ็บ โดยเฉพาะบริเวณ basement membrane [34]

ความสำคัญทางคลินิกในระยะนี้ คือการคิดค้นวิธีการรักษาที่สัมพันธ์กับการซ่อมแซมของร่างกาย เพื่อให้ไตสามารถกลับคืนสู่ภาวะปกติได้มากที่สุด ถ้าสุดมีการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า การใช้ insulin growth factor-1 และ hepatocyte growth factor สามารถกระตุ้นการฟื้นตัวของไต

ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [35,36] อย่างไรก็ตาม การศึกษา randomized multicenter trial ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันที่อยู่ในหออภิบาลผู้ป่วยหนักนั้น พบว่าการให้ insulin growth factor-1 ไม่ได้ทำให้การทำงานของไตดีขึ้น แต่กลับพบว่ากลุ่มที่ได้รับนั้นมีแนวโน้มปริมาณปัสสาวะลดลง และมี GFR ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

2.3 การรักษาประคับประคองภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือดด้วยการฟอกเลือด

การรักษาทดแทนไต และกระบวนการทำให้เลือดบริสุทธิ์ (blood purification) ต่างๆ ในภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด มีจุดประสงค์เพื่อ (1) ทดแทนการทำงานของไตที่ลดลง (2) รักษาสมดุลย์ทางสรีรวิทยา (3) กระตุ้นให้เกิดการฟื้นตัวของไตโดยเร็ว และ (4) ตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันร่างกายชนิด humoral response ที่ส่งผลต่อไต ภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดไม่ว่าจะอยู่ในความหมายของ septic shock, severe sepsis หรือ MOSF ล้วนเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตที่พบบ่อยในผู้ป่วยหออภิบาลผู้ป่วยหนัก สัมพันธ์กับอัตราการครองเตียงที่นาน และเป็นสาเหตุหลักของการเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่พบบ่อย [37] ทำให้มีผู้เสนอว่าภาวะไตวายฉับพลันในผู้ป่วยหนัก (AKI in critically ill patients) มีความหมายที่ใกล้เคียงและน่าจะสามารถใช้แทนความหมายภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด (sepsis-related AKI) ได้ [33]

การศึกษาผู้ป่วย 1,753 คน ใน the Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) study [38] ซึ่งเป็นการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับการเจ็บป่วยรุนแรง (acute critically ill) ตารางที่ 2.2 พบว่ามีอุบัติการณ์การเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดถึง 833 คน (ร้อยละ 47.5) โดยสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกที่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ มีความดันโลหิตไม่คงที่ โรคติดเชื้อมีความรุนแรงมาก และการได้รับ vasoactive agents จากข้อมูลพบผู้ป่วยมี oliguria ถึงร้อยละ 67 และอุบัติการณ์การเสียชีวิตในโรงพยาบาลสูงถึงร้อยละ 70.2 เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดร้อยละ 51.8 คิดเป็น odds ratio (OR) 1.48 (1.17-1.89; 95%CI) อย่างไรก็ตาม พบว่าภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดมีแนวโน้มการฟื้นตัวของไตที่ดีกว่า และสามารถหยุดการฟอกเลือดได้เมื่อผู้ป่วยออกจากโรงพยาบาล

การศึกษาใน BEST Kidney study ยังพบว่าการฟอกเลือดในการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent hemodialysis; IHD) มีภาวะความดันโลหิตต่ำระหว่างการฟอกเลือดมากกว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง (continuous renal replacement therapy; CRRT) ถึง 2 เท่า (ร้อยละ 24

และ 11.1 ตามลำดับ) [38] และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องสามารถหยุดการฟอกเลือดได้มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง ทั้งๆ ที่มีความรุนแรงของโรคมากกว่า อีกทั้งการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ logistic regression analysis พบว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องเป็นปัจจัยทำนายการฟื้นตัวของไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยมีค่าเฉลี่ยมากกว่าการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องประมาณ 3 เท่า **แผนภูมิกราฟที่ 2.1** สอดคล้องกับการศึกษา randomized control trial ก่อนหน้าของ Mehta และคณะ [39] ที่รายงานว่า การฟอกเลือดแบบต่อเนื่องสัมพันธ์กับการฟื้นตัวของไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (การฟอกเลือดแบบต่อเนื่องเปรียบเทียบกับ การฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง เป็นร้อยละ 92.3 และ 59.4 ตามลำดับ) จากหลักฐานทั้งหมดนี้จึงพอสรุปได้ว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องก่อให้เกิดภาวะความดันโลหิตต่ำระหว่างการฟอกเลือดน้อยกว่า และสัมพันธ์กับการฟื้นตัวของไตมากกว่าการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง

อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาจากข้อมูลพื้นฐาน พบว่ากลุ่มประชากรของทั้งสองการศึกษานี้มีอุบัติการณ์การเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดไม่ถึงร้อยละ 50 ซึ่งอาจไม่สามารถใช้อธิบายในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดได้ทั้งหมด และถ้าหากพิจารณาจากการศึกษา meta-analysis [40] ที่มีอยู่ในปัจจุบัน พบว่ายังไม่มีความชัดเจนเพียงพอที่จะสรุปว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง หรือการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องนั้นดีกว่ากัน โดยอาจมีเพียงประเด็นด้านการสิ้นเปลืองทรัพยากรในการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องที่มีมากกว่า แต่จากการศึกษาล่าสุดพบว่า เป็นปัจจัยดังกล่าวเป็นปัจจัยเฉพาะแต่ละสถาบัน ซึ่งในสถาบันที่ใช้ขนาดของการฟอกเลือดลดลงมาที่ 20-25 มิลลิลิตร/ กิโลกรัม/ ชั่วโมง ก็พบว่ามีการใช้ทรัพยากรที่ไม่ต่างจากการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง [41] โดยสรุป ในปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง หรือแบบไม่ต่อเนื่องมีประโยชน์กับกลุ่มผู้ป่วยหนักที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดมากกว่ากัน

2.4 ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของการรักษาทดแทนไตในภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด (Potential immunological effects of renal replacement therapy in sepsis)

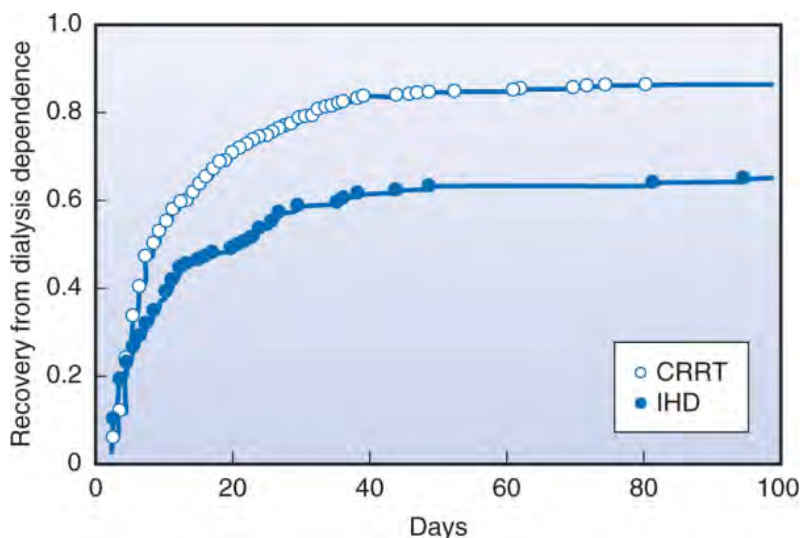
ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อในกระแสเลือด มุ่งเน้นไปที่สาเหตุของการเกิด MOF ซึ่งรวมถึงภาวะไตวายฉับพลัน พบว่านอกจากปัจจัยทางด้าน hemodynamics แล้ว สารต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการระบวงการอักเสบ ที่ส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายก็มีบทบาทที่สำคัญ โดยเฉพาะสารไซโตไคน์ และตัวกลางต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ (septic mediators) ซึ่งในความเป็นจริงแล้ว สารเหล่านี้สามารถละลายได้ดีในน้ำ (soluble mediators) เช่น ละลายใน

พลาสมาได้ และมีหลักฐานที่แสดงถึงความเป็นไปได้ว่าการขจัดสารเหล่านี้ให้มีระดับความเข้มข้นในกระแสเลือดลดลงนั้นส่งผลดีต่อร่างกายโดยรวม

ตารางที่ 2.2 ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการรักษาทดแทนไตในการศึกษา BEST Kidney study ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อและไม่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด

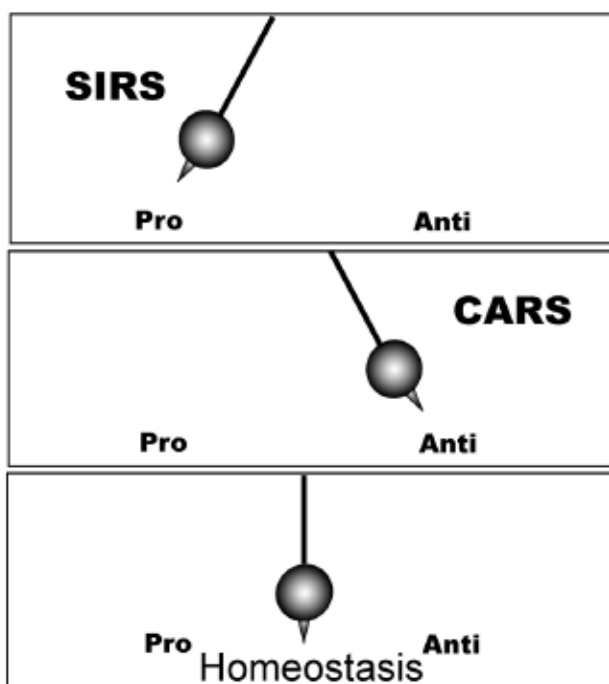
CHARACTERISTIC	TOTAL (N = 1250)	SEPTIC (N = 596)	NONSEPTIC (N = 654)	p-VALUE
Age (yr) [mean (SD)]	61.6 (15.4)	62.1 (15.4)	61.2 (16.6)	0.32
Male sex (%)	64.6	64.9	64.4	0.86
Weight (kg) [mean (SD)]	75.3 (18.2)	75.5 (18)	74.2 (18.3)	0.78
Surgical admission (%)	50.6	42.5	57.9	<0.001
SAPS II [mean (SD)]	50.2 (17.7)	53.8 (18.1)	46.9 (16.7)	<0.001
SOFA [mean (SD)]	10.9 (3.4)	11.9 (3.2)	9.9 (3.3)	<0.001
Mechanical ventilation (%)	80.2	89.2	71.7	<0.001
Vasoactive drugs (%)	73.9	82.5	66.2	<0.001

SAPS II, Simplified Acute Physiology Score; SD, standard deviation; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment



แผนภูมิกราฟที่ 2.1 ลักษณะกราฟ inverted Kaplan-Meier แสดงการฟื้นตัวของไตจากภาวะฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง (CRRT) ที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (IHD) ในผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลัน

สมมติฐานเกี่ยวกับการทำให้เลือดให้บริสุทธิ์ (blood purification) ด้วยเทคนิคต่างๆ โดยคำนึงถึงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายต่อการติดเชื้อจึงเป็นองค์ความรู้ที่สำคัญ ทั้งนี้เพื่อปรับให้ร่างกายเข้าสู่สมดุลย์ทางระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (immunohomeostasis) โดยเร็ว [42,43] **รูปที่ 2.5** เนื่องจากในระยะแรกของการติดเชื้อในกระแสเลือด ร่างกายจะมีการตอบสนองด้วย pro-inflammatory innate immune response เรียกภาวะนี้ว่า SIRS (systemic inflammatory response syndrome) หลังจากนั้นจะมีการตอบสนองด้วย anti-inflammatory response เรียกภาวะนี้ว่า CARS (compensatory anti-inflammatory response syndrome) ดังนั้น การทำให้ร่างกายเข้าสู่สมดุลย์ของระบบภูมิคุ้มกันโดยเร็วจะสัมพันธ์กับผลการรักษาที่ดี แต่หากปล่อยให้ร่างกายอยู่ในระยะ CARS นานจะเกิดภาวะ “immunoparalysis” ขึ้น ส่งผลเพิ่มอัตราการเกิด MOSEF

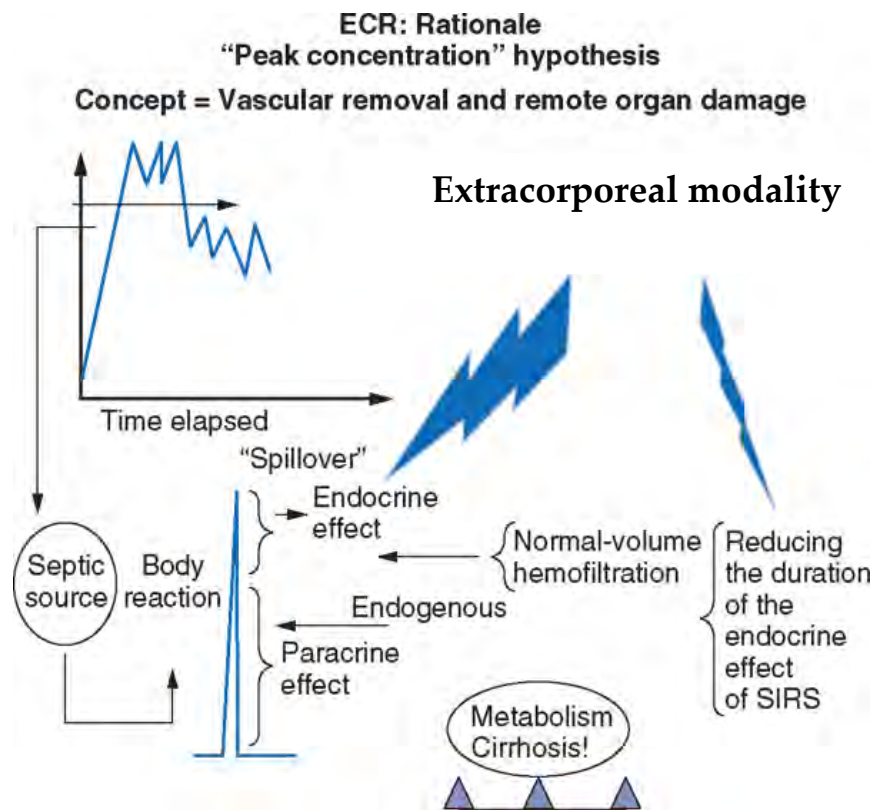


รูปที่ 2.5 ถ่วงสมดุลย์ทางระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (the pendulum of immunohomeostasis)

SIRS, systemic inflammatory response syndrome; CARS, compensatory anti-inflammatory response syndrome

ที่ผ่านมา Ronco และ Bellomo [44] ได้เสนอสมมติฐาน “*peak concentration hypothesis*” **รูปที่ 2.6** ว่าการขจัดสารไซโตคายน์และตัวกลางอื่นๆ ในช่วงระยะ pro-inflammatory ของภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด จะลดอัตราการเกิดภาวะทุพพลภาพและเสียชีวิต อย่างไรก็ตาม สมมติฐานนี้ไม่ได้ให้ความสำคัญกับระดับความเข้มข้นของสารไซโตคายน์และตัวกลางในเนื้อเยื่อ (interstitial และ tissue level) จากหลักการดังกล่าวนี้ จึงมีการพัฒนารูปแบบการขจัดสารเพื่อให้

ได้ปริมาณการขจัดสารเพิ่มขึ้น เรียกว่า high-volume hemofiltration (HVHF) และ very high-volume hemofiltration อยู่ในรูปของ hybrid therapy ได้แก่ high-permeability hemofiltration (HPHF), super-high-flux hemofiltration (SHFHF), hemoadsorption และ coupled plasmafiltration and adsorption (CPFA) เป็นต้น รวมถึงการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีใน adsorptive technique เพื่อเพิ่ม driving force ในกระบวนการ hemofiltration ต่อมาได้มีผู้ทักท้วงการใช้คำว่า adsorption เป็นการใช้ที่ผิด เนื่องจากเลือดไม่ได้ไหลผ่าน semipermeable membrane และพื้นฐานของการขจัดของเสียก็ไม่ได้เกิดจากการกระบวนการพาและแรงดัน oncotic [45]

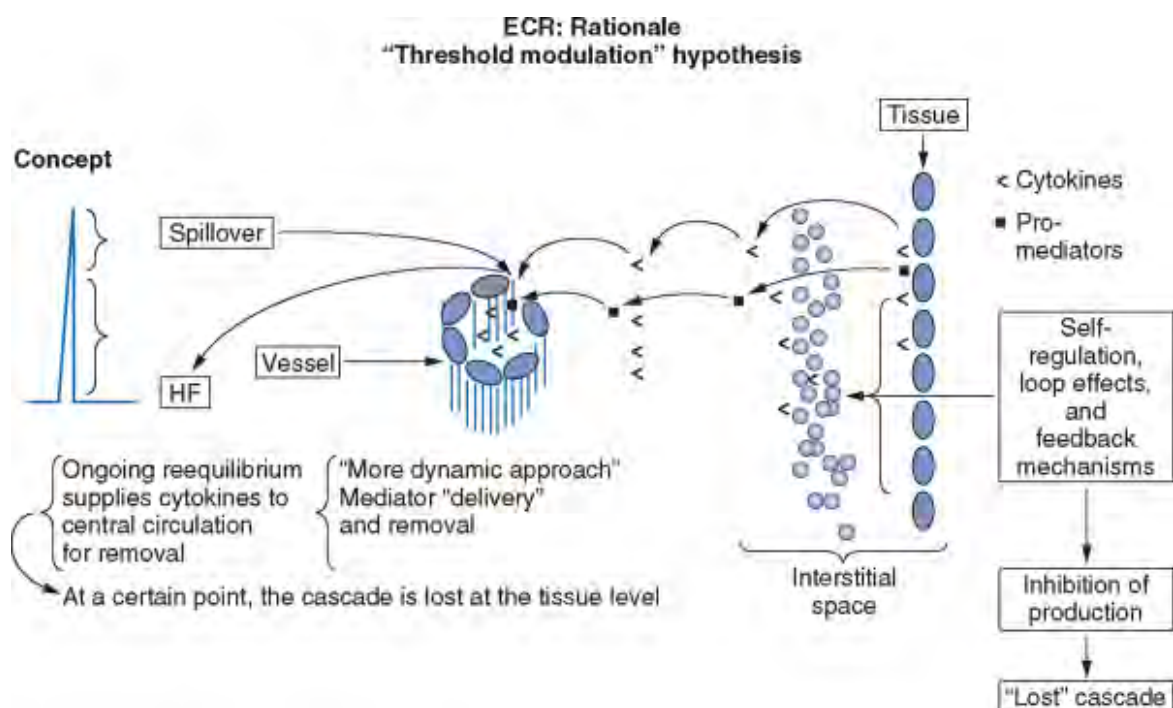


รูปที่ 2.6 การขจัดสารตัวกลางตามสมมติฐาน the peak concentration hypothesis

ECR, extracorporeal removal; SIRS, systemic inflammatory response syndrome

สมมติฐานเกี่ยวกับการทำเลือดให้บริสุทธิ์อีกรูปแบบ คือ "threshold immunomodulation hypothesis" [46] รูปที่ 2.7 ซึ่งเสนอโดย Honoré จึงเรียกว่า "Honoré concept" สมมติฐานนี้มองระบบว่ามีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา หรือเป็นจลศาสตร์มากขึ้น ให้ความสำคัญกับระดับความเข้มข้นของสารไซโตคายน์และตัวกลางในเนื้อเยื่อ (interstitial และ tissue level) เมื่อมีการ

ขจัดสารตัวกลางจนถึงระดับ “threshold point” เนื้อเยื่อก็จะไม่ได้รับอันตรายจากสารตัวกลางอีก อย่างไรก็ตาม ในทางเวชปฏิบัติเป็นการยากที่จะทราบว่าในช่วงระหว่างการฟอกเลือดเมื่อใดถึงจุดดังกล่าวแล้ว และหลักฐานจากหลายการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตและ hemodynamics ดีขึ้นเมื่อใช้ HVHF รวมถึงระดับความเข้มข้นของสารตัวกลางในเนื้อเยื่อลดลงจนถึงระดับไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ [47-49] แต่สมมติฐานนี้ไม่สามารถอธิบายได้ว่าเหตุใดผลการศึกษานี้กลับพบระดับความเข้มข้นของสารตัวกลางในพลาสมายังคงเท่าเดิม เป็นการเพิ่มขึ้นภายหลังโดยการแทนที่ของสารตัวกลางจากเนื้อเยื่อหรือไม่ และมีความจำเป็นต้องเพิ่มอัตราการขจัดของเสียต่างๆ ที่ถึงระดับ threshold point แล้วหรือไม่

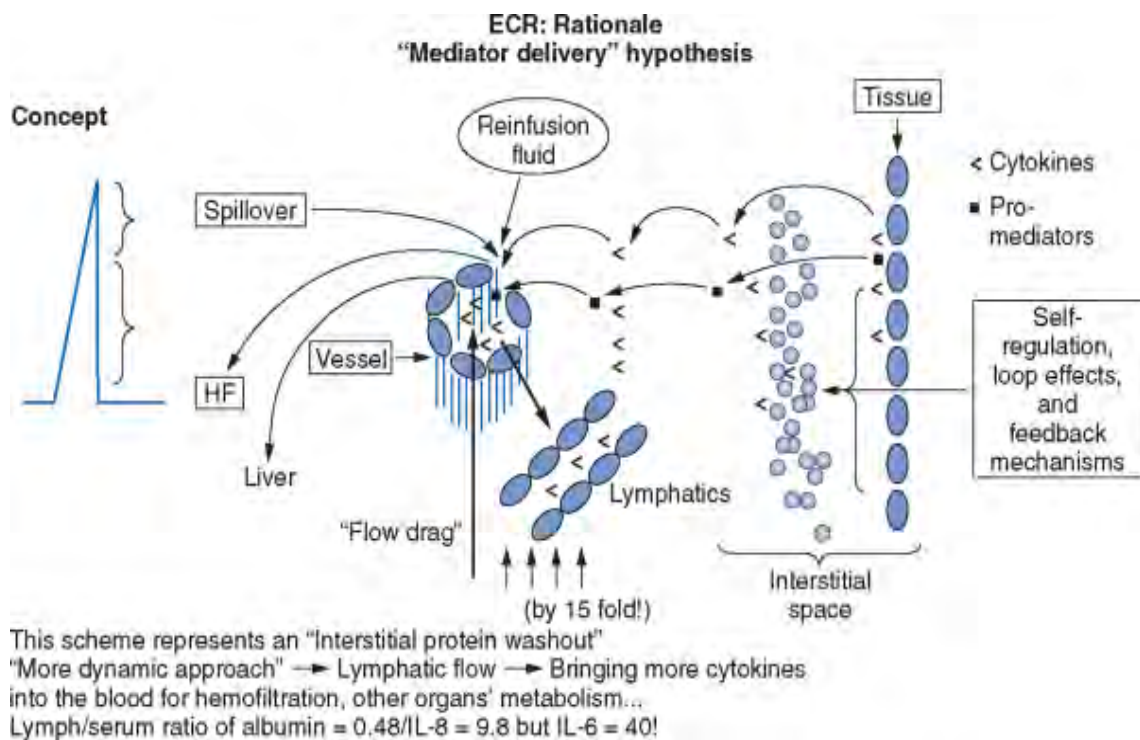


รูปที่ 2.7 การขจัดสารตัวกลางตามสมมติฐาน the threshold immunomodulation hypothesis

ECR, extracorporeal removal; HF, hemofiltration

ล่าสุด Alexander [50] ได้เสนอสมมติฐาน “mediator delivery hypothesis” **รูปที่ 2.8** หรือ “Alexander concept” ในทฤษฎีนี้จำเป็นต้องใช้วิธีการฟอกเลือดแบบ HVHF ซึ่งจะให้ผลในการขจัดสารตัวกลางต่างๆ ได้ดีขึ้น เนื่องจากการให้สารน้ำปริมาณมาก (3-5 ลิตรต่อชั่วโมง) เข้าสู่ร่างกายจะทำให้กระแสน้ำเหลือง (lymphatic flow) เพิ่มขึ้น 20-40 เท่าจากเดิม ส่งผลให้การขนส่งสารตัวกลาง และสารไซโตคายน์ทางกระแสเลือดจากระดับเนื้อเยื่อออกมาสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น (flow drag) [51] ซึ่งในปัจจุบันทราบว่า นอกเหนือจากการขจัดสารไซโตคายน์ทั้งกลุ่ม pro- และ

anti-inflammatory แล้ว HVHF ยังสามารถขจัด endothelin-1 (ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิด pulmonary hypertension ในระยะแรกของภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด), endocannabinoids (ซึ่งเป็นสาเหตุของ vasoplegia และมีฤทธิ์กีดการทำงานของ myocardium) และ platelet-activating inhibitor-1 (PAI-1) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะ disseminated intravascular coagulation (DIC) ในภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด



รูปที่ 2.8 การขจัดสารตัวกลางตามสมมติฐาน the mediator delivery hypothesis

ECR, extracorporeal removal; HF, hemofiltration

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานสนับสนุนว่าหลักการตามสมมติฐานใดถูกต้องมากกว่ากัน มีเพียงความเห็นที่ตรงกันว่าควรทำให้ร่างกายเข้าสู่สมดุลระบบภูมิคุ้มกันโดยเร็วที่สุด [52] หากพิจารณาจากกลไกทางพยาธิสรีรวิทยาของรูปแบบการฟอกเลือดต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย พบว่าการศึกษาในปัจจุบันส่วนใหญ่ให้ความสำคัญกับเทคนิคการฟอกเลือดที่สามารถขจัดสารตัวกลาง ทั้งในกลุ่ม pro- และ anti-inflammatory จากระบบไหลเวียนหลอดเลือดและหัวใจของร่างกาย ได้แก่ hemodialysis (continuous high-flux), hemofiltration (high-flow หรือ ultrafiltration), plasma therapy และ hemoadsorption เป็นต้น สรุปในตารางที่ 2.3 แต่เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบหรือข้อตกลงร่วม (consensus) ว่ารูปแบบใดเหนือกว่าหรือมี

ประโยชน์มากกว่ากัน และหากพิจารณาถึงความเป็นไปได้ (feasibility) และสามารถในการเข้าถึงของผู้ป่วย จะพบว่ามีเพียงการฟอกเลือดแบบ hemodialysis และ hemofiltration ที่มีการใช้อยู่ และผู้ป่วยสามารถเข้าถึงได้

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบรูปแบบของการฟอกเลือดที่ใช้เป็นประจำในผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลันที่สัมพันธ์กับภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด

MODALITIES	PRINCIPLES	FLUID BALANCE	PARAMETERS	COMMENTS
CVVH	Convection	Ultrafiltrate replaced by replacement solution	Q_B : 50-200 mL/min Q_{UF} : 20-35 mL/min K : 12-36 L/24 hr	High Q_{UF} needed to achieve meaningful cytokine removal
CHFD	Diffusion and convection	Replacement not required	Q_B : 50-200 mL/min P_F : 2-8 mL/min Q_D : 50-200 mL/min K : 40-60 L/24/hr	Limited data in sepsis
CPFA	Plasma filtration (convection) and hemadsorption	Maintained	Q_B : 50-200 mL/min P_F : 20-30 mL/min	Requires plasma separation
TPE	Plasma filtration/exchange	Replaced with donor plasma	Q_B : 100-180 mL/min P_F : 39-82 mL/min	Sepsis with hematological and other plasma-borne humoral diseases

CHFD, continuous high-flux dialysis; CPFA, coupled plasma filtration adsorption; CVVH, continuous venovenous hemofiltration; K, clearance (urea); P_F , flow of plasma filtration; Q_B , blood flow; Q_D , flow of dialysate; Q_{UF} , flow of ultrafiltrate; TPE, therapeutic plasma exchange.

ด้วยคุณสมบัติส่วนใหญ่ของสารไซโตคัยน์ที่อยู่ในรูปอิสระ ไม่รวมตัวกับโปรตีน (non-protein bound) ละลายน้ำได้ดี มีโมเลกุลขนาดกลาง (8-51 กิโลดาลตัน) และที่สำคัญคือถูกขับออกจากร่างกายทางไต ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้กระบวนการ hemofiltration น่าจะเป็นรูปแบบที่ดีในการขจัดสารไซโตคัยน์ ร่วมกับมีเหตุผลสนับสนุนอื่นๆ ได้แก่ ภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดไม่สามารถอธิบายได้ด้วยหลักการใดเพียงหลักการเดียว (one-hit model) แต่มีความซับซ้อนมากและมี

การสร้างสารไซโตคายน์เกิดขึ้นต่อเนื่องตลอดเวลา ไม่ได้มีตัวกลางที่สำคัญโดยตรงชนิดเดียว และไม่สามารถการรักษาเพียงครั้งเดียว จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้รูปแบบการขจัดสารต่อเนื่อง (continuous mode) นอกจากนี้ เนื่องจากการติดเชื่อในกระแสเลือดมักสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน ดังนั้นรูปแบบของการขจัดสารจึงควรมีความสามารถในการควบคุมน้ำและของเสียได้ดี โดยไม่ส่งผลกระทบต่อระดับความดันโลหิต

อย่างไรก็ตาม การฟอกเลือดด้วยวิธี hemofiltration ก็มีข้อจำกัดที่ต้องทำการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง และใช้ทรัพยากรค่อนข้างมาก ไม่ว่าจะเป็นบุคลากรทางการแพทย์ที่ใช้ในการดูแลระหว่างการฟอกเลือด หรือการให้สารน้ำทดแทนปริมาณมากในการฟอกเลือดเพื่อให้ได้การขจัดของเสียที่เพียงพอ [39] ตารางที่ 2.4 และ 2.5 และถึงแม้ว่าการที่จะทำให้เกิดอัตราการขจัดสารสื่อกลางมากที่สุด สามารถทำโดยการเพิ่ม ultrafiltration rate หรือเพิ่ม porosity ของ membrane ซึ่ง Ronco และคณะ [53] แนะนำว่าจากเทคโนโลยีที่มีอยู่ในปัจจุบัน การเพิ่ม ultrafiltration rate น่าจะได้ประโยชน์มากกว่า โดยเฉพาะการเพิ่มระดับ hemofiltration เป็น high-volume hemofiltration เพื่อเพิ่มอัตราการขจัดสารสื่อกลาง ซึ่งได้มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง และทำการศึกษา pilot ในมนุษย์นั้นให้ผลที่ดี [54] และการศึกษายังคงดำเนินต่อไปในขั้น phase II randomized controlled trial แต่ข้อมูลจากหลายการศึกษากลับพบว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี hemofiltration นั้นไม่สามารถขจัดสารไซโตคายน์ในกระแสเลือดได้ [53] ถึงแม้ว่าจะใช้ high-flux synthetic membrane (estimated industrial หรือ nominal cutoff point 30-40 กิโลดาลตัน, estimated *in vivo* cutoff point 15-25 กิโลดาลตัน; cutoff point นิยามจาก convention ที่ sieving coefficient 0.1) และพบว่าการขจัดสารอื่นๆ นอกเหนือจากสารไซโตคายน์ก็ยังไม่ดีเท่าที่ควร นอกจากนี้ รูปแบบการฟอกเลือดทั้ง high-volume hemofiltration และ high cutoff hemofiltration ยังเป็นรูปแบบที่ต้องใช้ทรัพยากรมากทั้งบุคลากร เครื่องมือ และค่าใช้จ่ายที่สูงมาก

เช่นเดียวกันกับการฟอกเลือดด้วยวิธี hemodialysis ที่ต้องใช้รูปแบบการฟอกเลือดต่อเนื่อง และการฟอกเลือดด้วยวิธีนี้มีความสามารถในการขจัดสารที่มีโมเลกุลขนาดกลางเช่นไซโตคายน์ได้ไม่ดีนักเมื่อเทียบกับการฟอกเลือดด้วยวิธี hemofiltration

ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบข้อดีและข้อจำกัดระหว่างการฟอกเลือดแบบ intermittent hemodialysis และ hemofiltration

	ADVANTAGES	LIMITATIONS
Intermittent hemodialysis	High clearance for small molecules Patient's mobility Several patients treated per day with one machine Low or no anticoagulation, low bleeding risk Lower cost	Hemodynamic tolerance Abrupt osmolality variations Fluid management over short period Dialysis dose not predictable Microbiological dialysate safety Nurse training
Hemofiltration	Good hemodynamic tolerance Continuously adaptable metabolic control Low osmolality variations Better fluid management Removal of medium-molecular-weight substances Sterile fluid bags	Anticoagulation and bleeding risk Low patient mobility Frequent unplanned interruptions (coagulation +++) One monitor needed per day for each patient Fluid storage Nurse workload Higher cost

2.5 การฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องด้วยวิธี high-flux hemodialysis และ on-line hemodiafiltration)

การฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องด้วยวิธี high-flux hemodialysis เป็นวิธีการฟอกเลือดที่ใช้ตัวกรองที่มีคุณสมบัติ high permeable membrane ร่วมกับระบบควบคุมกระบวนการ ultrafiltration ดังนั้น ระบบจะต้องมีการตั้งแรงดันที่เป็นบวกให้แก่ dialysis compartment เพื่อลดจำนวนของ ultrafiltration และควบคุมการใช้สารน้ำทดแทนไม่ให้มากเกินไป และเนื่องจากลักษณะที่เป็น peculiar structure ของ hallow-fiber dialyzers ทำให้กระบวนการ filtration เกิดบริเวณส่วนต้นของ filter และเกิด backfiltration ที่บริเวณส่วนปลาย ดังนั้น กระบวนการ diffusion และ convection จะเกิดร่วมกันจากผลของ backfiltration ที่บริเวณส่วนปลายไป masked high filtration rate ที่เกิดบริเวณส่วนต้นของตัวกรอง การฟอกเลือดวิธีนี้ไม่ต้องใช้สารน้ำทดแทนเพราะกระบวนการทั้งหมดเกิดขึ้นใน filter ผ่านกลไก backfiltration

ตารางที่ 2.5 เปรียบเทียบรูปแบบการรักษาทดแทนไตแต่ละชนิด

	SCUF	CAVH	CVVH	CAVHD	CAVHDF	CVVHD	CVVHDF	PD	IHD
Access	A-V	A-V	V-V	A-V	A-V	V-V	V-V	Peritoneal catheter	V-V
Pump	No	No	Yes	No	No	Yes	Yes	No [†]	Yes
Filtrate (mL/hr)	100	600	1000	300	600	300	800	100	1000
Filtrate (L/d)	2.4	14.4	24	7.2	14.4	7.2	19.2	2.4	1-5
Dialysate flow (L/hr)	0	0	0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.4	30
Replacement fluid (L/day)	0	12	21.6	4.8	12	4.8	16.8	0	0
Urea clearance (mL/min)	1.7	10	16.7	21.7	26.7	21.7	30	8.5	200
Weekly urea clearance (L)	16.8	100.8	168	218.8	269	218	302	85.7	144-336
Cost ‡	1	2	4	3	3	4	4	3	2

†Cyber can be used to automate exchanges, but they add to the cost and complexity.

‡1 = least expensive; 4 = most expensive.

A-V, arteriovenous; CAVH, continuous arteriovenous hemofiltration; CAVHD, continuous arteriovenous hemofiltration with dialysis; CAVHDF, continuous arteriovenous hemodiafiltration; CVVH, continuous venovenous hemofiltration; CVVHD, continuous venovenous hemofiltration with dialysis; CVVHDF, continuous venovenous hemodiafiltration; IHD, intermittent hemodialysis; SCUF, slow continuous ultrafiltration; V-V, venovenous.

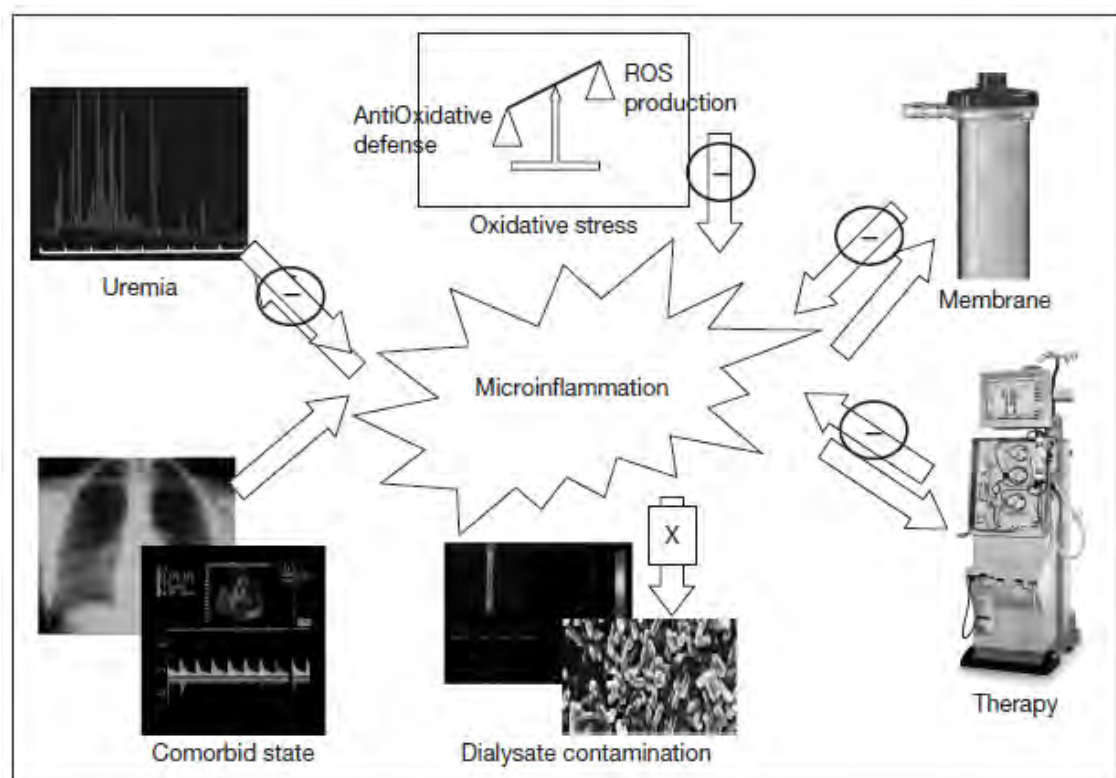
สำหรับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration เป็นเทคนิคการฟอกเลือดที่ใช้การฟอกเลือดรูปแบบ hemodialysis ร่วมกับ hemofiltration ผ่านตัวกรองที่มีคุณสมบัติ high permeable membrane ทำให้สามารถขจัดสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ได้ เกิดมี ultrafiltrate 10-15 ลิตรต่อการฟอกเลือดได้ การเลือดแบบนี้ต้องใช้สารน้ำทดแทนตามสมดุลย์น้ำหนักของผู้ป่วย (patient's weight balance) โดยอาจใช้เป็นถุงผสมหรือระบบออนไลน์

พื้นฐานของการทำการฟอกเลือดระบบนี้ใช้กระบวนการแพร่ (diffusion) ซึ่งขจัดสาร uremic toxin ชนิดที่มีขนาดโมเลกุลเล็กโดยการซึมผ่าน semipermeable membrane จากด้านที่มีความเข้มข้นมากไปสู่ด้านที่มีความเข้มข้นน้อย และกระบวนการพา (convection) ซึ่งขจัดสาร uremic toxins ชนิดโมเลกุลขนาดกลางตามการผ่านออกของน้ำ (ultrafiltration) และเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการขจัดสาร uremic toxins ชนิด middle molecule ให้มากขึ้น จึงมีการพัฒนาวิธีการต่างๆ ให้สามารถเพิ่มกระบวนการพาได้มากขึ้น โดยอาจต้องเพิ่มแรงดัน (positive pressure) หรือเพิ่มแรงดึงดูด (negative pressure) ทางด้านสารน้ำ (dialysate) หรือการให้สารน้ำทดแทน และดึงออกทางด้าน dialysate ในรูปของ ultrafiltration ซึ่งเรียกว่า hemodiafiltration

2.6 การตอบสนองทางชีววิทยาของร่างกายต่อรูปแบบการฟอกเลือด on-line hemodiafiltration

ภาวะไตวายเฉียบพลันและไตวายเรื้อรังล้วนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาในหลายระดับชั้น ได้แก่ เซลล์ สิ่งแวดล้อมรอบๆ เซลล์ หลอดเลือด และอวัยวะ เป็นต้น โดยเฉพาะการเกิดอาการจากภาวะ uremia ที่เกิดจากการสะสมของสาร solutes ที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลหลากหลาย

หลายปีที่ผ่านมา มีการใช้วิธีการฟอกเลือดแบบ standard low-flux hemodialysis กันอย่างแพร่หลาย แต่หลังจากที่มีการปรับปรุงพัฒนาตัวกรองให้เป็นแบบ high-permeability membrane จึงมีการใช้วิธีการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis และ hemodiafiltration มากขึ้น หลังจากนั้น ในทศวรรษที่ 80 มีการใช้ cold sterilization ของสารน้ำด้วยกระบวนการ ultrafiltration เข้าสู่ระบบการฟอกเลือด โดยมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ sterile และ nonpyrogenic intravenous-grade solution จนทำให้ทุกวันนี้ on-line hemodiafiltration เป็นรูปแบบการฟอกเลือดที่ได้รับการยอมรับ และมีการใช้อย่างแพร่หลาย [55] ในปัจจุบัน การฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration เป็นวิธีที่ยอมรับกันว่ามีประโยชน์ในกลุ่มผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง ที่นอกจากจะเพิ่มการขจัดสาร uremic toxins แล้วยังเพิ่ม convective clearance ที่ทำให้ dialysis efficiency เพิ่มขึ้นด้วย สำหรับข้อมูลของ on-line hemodiafiltration ในผู้ป่วยไตวายเฉียบพลันยังไม่มีการศึกษาในรายละเอียดว่าให้ประโยชน์หรือโทษอย่างไร แต่จากการศึกษาผลของการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration ที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกายมีการลดลงของคอมพลีเมนต์-ดี (complement D) หลังการฟอกเลือด ถึงแม้ว่าผลทางด้านคลินิกยังไม่ชัดเจน แต่เป็นที่ทราบกันดีว่าคอมพลีเมนต์-ดี มีบทบาทในการกระตุ้นกระบวนการคอมพลีเมนต์ cascade และยับยั้งกระบวนการ degranulation ของเม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear cell ที่จะทำให้เกิดการอักเสบและสารอนุมูลอิสระในร่างกาย นอกจากนี้ ยังพบว่ามีการลดลงของสารไซโตไคน์กลุ่ม pro-inflammatory CD14+CD16+, C-reactive protein (CRP), IL-6 และ TNF- α หลังทำการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration เมื่อเปรียบเทียบกับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis [56] ทั้งหมดนี้ กล่าวได้ว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ทำให้ภาวะ uremia ลดลง ระดับความเข้มข้นของสารไซโตไคน์และอนุมูลอิสระในกระแสเลือดลดลง ลดกระบวนการการอักเสบในร่างกาย โดยเฉพาะ microinflammation รวมทั้งให้ผลกระทบน้อยต่อโรคร่วมของผู้ป่วย [57] **รูปที่ 2.9**



รูปที่ 2.9 การตอบสนองทางชีววิทยาต่อการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration

ROS, reactive oxygen species

2.7 รูปแบบการฟอกเลือด on-line hemodiafiltration ในทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในกระแสเลือด

ในปัจจุบันการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis จัดเป็นมาตรฐานการรักษาผู้ป่วยไตวายจากสาเหตุต่างๆ รวมทั้งผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลันที่พบร่วมกับการติดเชื้อในกระแสเลือด [58] จากการศึกษาในระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดของผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลันที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีดังกล่าว พบว่าหลังจากการฟอกเลือดเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ตรวจพบผู้ป่วยมีระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดลดลงร้อยละ 2.5 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เปรียบเทียบกับก่อนการฟอกเลือด [1] เช่นเดียวกับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีการศึกษาพบว่า การขจัดสาร IL-18 หลังได้รับการฟอกเลือดเป็นระยะเวลานาน 6 เดือนในผู้ป่วยไตเรื้อรัง 17 คน มีค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลง IL-18 มีค่าความเข้มข้นในกระแสเลือดลดลง 76.77 ± 56.9 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร [59] อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาพบว่า การลดลงของระดับความเข้มข้นของ IL-18 (ขนาดโมเลกุล 18 กิโลดาลตัน), IL-6 (ขนาดโมเลกุล 26 กิโลดาลตัน) ในกระแสเลือดให้ผลตรงกันข้ามกับระดับความเข้มข้นของ CRP (ขนาด

โมเลกุล 23 กิโลดาลตัน) ในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น ทั้งๆ ควรมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจาก CRP มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง IL-6 และ IL-18 และมีปัจจัยการถูกกระตุ้นและตอบสนองต่อภาวะต่างๆ ที่คล้ายคลึงกัน [60] จึงอาจเป็นไปได้ว่าผลของระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดที่ลดลงเป็นผลจากการสร้าง IL-18 ที่ลดลงของตัวผู้ป่วยเอง

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเชิงทดลองรายงานผลทางคลินิกหลังการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันจำนวน 123 คน พบค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 54 [61]

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยด้านอื่นๆ ที่สัมพันธ์กับการฟอกเลือด พบว่าประสิทธิภาพของการกำจัดของเสียด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีแนวโน้มที่เหนือกว่าวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis ไม่ว่าจะเป็นการกำจัดสารของเสียโมเลกุลใหญ่ที่ดีกว่า และการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิตที่น้อยกว่า [62-64] ทำให้ในปัจจุบันยังไม่สามารถสรุปได้ว่าวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันร่วมกับการติดเชื้อในกระแสโลหิตนั้นดีกว่าวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis หรือไม่ รวมทั้งยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดสาร IL-18 และ VEGF ระหว่างวิธีการฟอกเลือดทั้งสองวิธีนี้

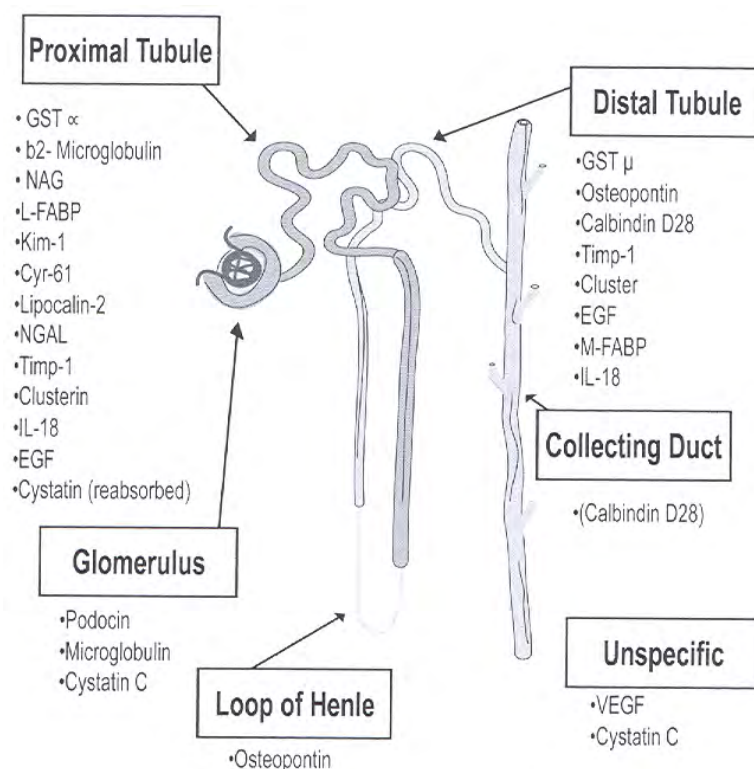
จากเหตุผลดังกล่าว เป็นที่มาของการวิจัยนี้ที่สนใจศึกษาวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันสัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด เนื่องจากเป็นรูปแบบการฟอกเลือดที่มีคุณสมบัติร่วมของกระบวนการแพร่ และการพาซึ่งทำให้การกำจัดของเสียและสารไซโตไคน์ มีประสิทธิภาพทั้งสารโมเลกุลขนาดเล็กและขนาดกลาง โดยหวังว่าจะมีคุณสมบัติการกำจัดสารที่ไม่ดีไปกว่าการฟอกเลือดแบบต่อเนื่องด้วยกระบวนการ hemofiltration และยังสามารถใช้รูปแบบการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่องได้อีกด้วย นอกจากนี้ ยังเป็นรูปแบบการฟอกเลือดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันอยู่แล้ว โดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยไตเรื้อรังที่ต้องรับการรักษาทดแทนไต

2.8 สารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายเฉียบพลัน (Biomarkers in acute kidney injury)

นอกจากภาวะไตวายเฉียบพลันจะเป็นผลจากการดำเนินของโรคต่างๆ ในระยะที่รุนแรงแล้ว ยังพบว่าเป็นผลที่เกิดจากการตรวจรักษาด้วยยาหรือสารต่างๆ และรักษาด้วยการผ่าตัดหลายประเภท ได้แก่ การใช้สารทึบรังสี (contrast media) ในการตรวจทางรังสีวิทยา การให้ยาเคมีบำบัด โดยเฉพาะยาในกลุ่ม cisplatin การผ่าตัดหลอดเลือดหัวใจ (cardiopulmonary bypass surgery) และการผ่าตัดปลูกถ่ายไตที่เกิดภาวะไตวายเฉียบพลันจากภาวะ ischemia reperfusion injury เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าในปัจจุบันจะมีความตระหนักในภาวะดังกล่าวข้างต้น พบว่ายังมี

การให้การรักษาภาวะไตวายฉับพลันที่ล่าช้าเกินไป เนื่องจากไม่สามารถตรวจพบว่ามีภาวะไตวายฉับพลันในระยะเริ่มแรก ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ให้ผลการรักษาได้ดีที่สุด จึงเป็นที่มาของความพยายามที่จะหาสารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายฉับพลันในระยะเริ่มแรก และเพื่อให้เครื่องมือนี้เป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษากลไกทางพยาธิสรีรวิทยาของภาวะไตวายฉับพลันจากสาเหตุต่างๆ [65] เนื่องจากสารวินิจฉัยทางชีวภาพบางชนิดมีความเฉพาะเจาะจงกับบริเวณที่เกิดพยาธิสภาพของหน่วยไต (nephron) นั้นๆ [66] **รูปที่ 2.10** สรุปวัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าสารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายฉับพลัน แสดงในตารางที่ 2.6

นอกจากนี้ สารวินิจฉัยทางชีวภาพยังถูกนำมาใช้เป็น surrogate endpoints ของการศึกษา clinical trials เพื่อประเมินติดตามผลการรักษาภาวะไตวายฉับพลัน ซึ่งสารวินิจฉัยทางชีวภาพที่ดีต้องมีความสัมพันธ์กับผลทางคลินิก (clinical endpoint) ด้วย [67] ลักษณะจำเพาะของสารที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ (1) เก็บส่งตรวจได้ง่าย เช่น การตรวจเลือด หรือปัสสาวะ; (2) มีขั้นตอนการตรวจที่ไม่สลับซับซ้อน สามารถตรวจวัดได้ที่ข้างเตียงผู้ป่วย หรือในห้องปฏิบัติการมาตรฐาน; (3) มีระบบการตรวจวัดที่ตรวจสอบและเชื่อถือได้ รวมทั้งใช้เวลาน้อย; (4) มีความไว (sensitivity) ในการตรวจวัด และสามารถแบ่งระดับความรุนแรงตามอาการทางคลินิกได้; (5) มีความจำเพาะ (specificity) และสามารถแบ่งชนิดของภาวะไตวายฉับพลันได้; และ (6) มีราคาไม่แพง และสามารถทำได้ในทุกแห่ง



รูปที่ 2.10 บริเวณของหน่วยไตที่หลังสารที่เป็นสารวินิจฉัยทางชีวภาพในภาวะบาดเจ็บของไต

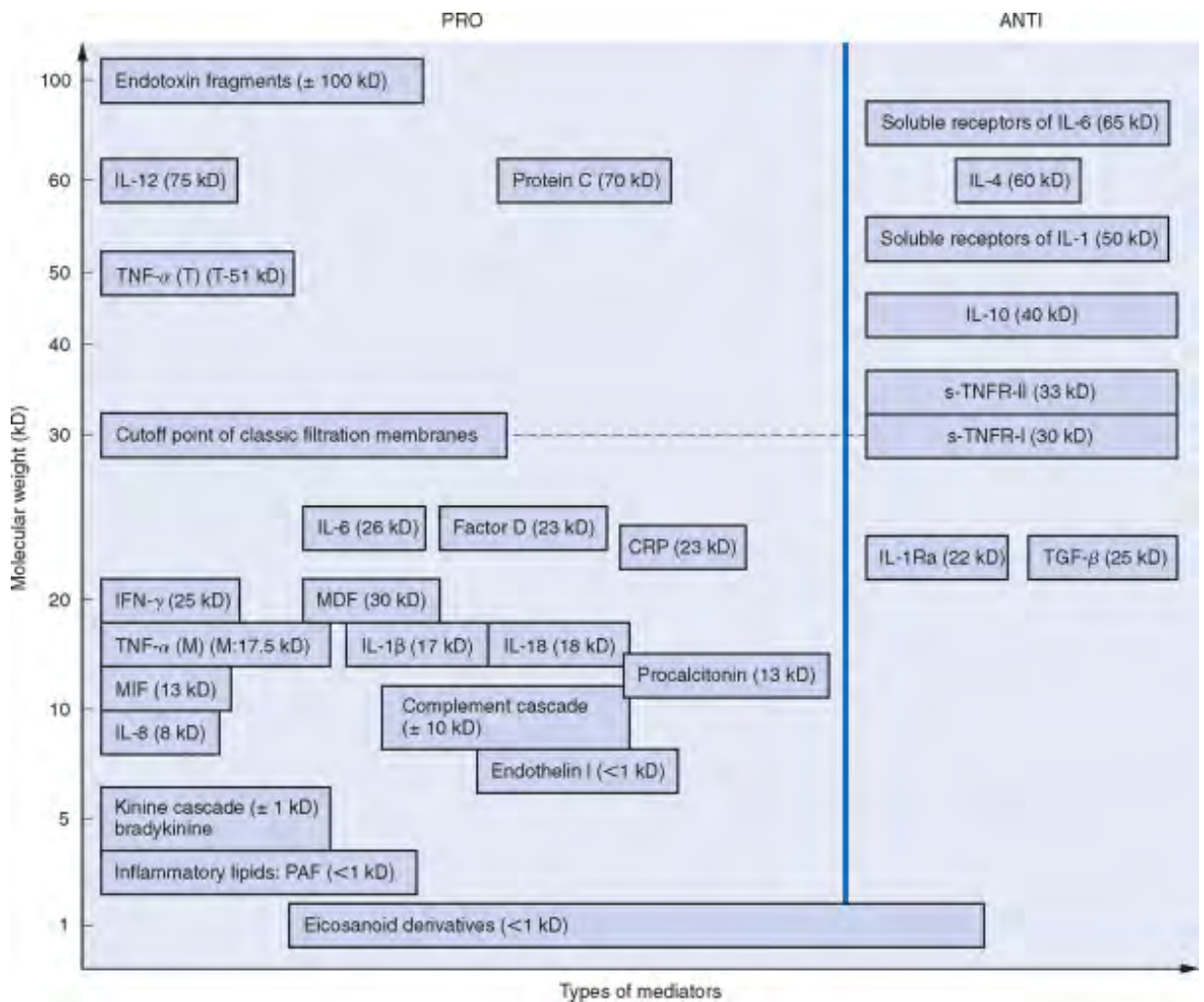
ตารางที่ 2.6 ขอบเขตของการใช้สารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายเฉียบพลัน

Biomarkers are needed to determine:

1. Location of injury (proximal tubule, distal tubule, interstitium or vasculature)
2. Duration of AKI (AKI, chronic kidney disease or “acute-on chronic” kidney disease)
3. AKI subtypes (prerenal, intrinsic renal or post-renal)
4. AKI etiologies (ischemia, toxins, sepsis or a combination)
5. Differentiate from other forms of acute kidney disease (urinary tract infection, glomerulonephritis or interstitial nephritis)
6. Risk stratification and prognostication (duration and severity of AKI, need for renal replacement therapy, length of hospital stay and mortality)
7. Defining course of AKI
8. Monitoring the response to AKI intervention

ที่ผ่านมา มีการนำสารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายเฉียบพลันในเวชปฏิบัติอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการใช้ neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) เพื่อวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันระยะเริ่มแรก พบว่า NGAL มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไตวายเฉียบพลันจากการขาดเลือด (ischemia) และพิษจากสารที่ส่งผลต่อไต (nephrotoxin) โดยสามารถตรวจพบได้ทั้งในเลือดและปัสสาวะหลังเกิดภาวะไตวายเฉียบพลันในระยะเริ่มแรก [68,69] อย่างไรก็ตาม สามารถตรวจพบ NGAL ได้ในภาวะอื่นๆ ได้แก่ ภาวะติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะหรือในระบบอื่นๆ ของร่างกาย (systemic infection) หรือภาวะความผิดปกติของไตที่เป็นอยู่ก่อน (pre-existing renal conditions) เป็นต้น ต่อมา มีการค้นพบ IL-18 ซึ่งเป็นหนึ่งในสารไซโตไคน์กลุ่ม pro-inflammatory **แผนภูมิรูปภาพที่ 2.1 และตารางที่ 2.7** และพบว่า IL-18 ในภาวะไตวายเฉียบพลันระยะเริ่มแรก ที่สร้างมาจากบริเวณ proximal tubule มีความจำเพาะต่อภาวะไตวายเฉียบพลันจากการขาดเลือดและรูปแบบอื่นๆ ของ ATN ทั้งนี้ จุดเด่นของ IL-18 คือ ไม่สัมพันธ์กับภาวะไตเรื้อรัง หรือภาวะติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ [70,71] การตรวจ cystatin-C ในเลือดเป็นสารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายเฉียบพลันอีกชนิดหนึ่งที่มีความไวมากในการวินิจฉัยว่าไตมี GFR ลดลง และสัมพันธ์กับการทำนายภาวะไตวายเฉียบพลันที่ไวกว่าระดับครีตินินในเลือดในกลุ่มผู้ป่วยหนัก [72] สำหรับสารวินิจฉัยทางชีวภาพของภาวะไตวายเฉียบพลันที่พบว่ามีประโยชน์ในแง่แยกสาเหตุของภาวะไตวายเฉียบพลันว่าเป็น prerenal, intrinsic renal หรือ post-renal คือ kidney injury molecule-1 (KIM-1) ซึ่งเป็น transmembrane protein ที่พบใน de-differentiated proximal tubule cells โดย

จะไม่พบในภาวะที่ไตทำงานปกติ อย่างไรก็ตาม KIM-1 มีความไวในการวินิจฉัยภาวะไตวายน้อยกว่า NGAL หรือ IL-18 (12-24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับ 2-6 ชั่วโมง ในผู้ป่วยหลังผ่าตัดหลอดเลือดหัวใจ ตามลำดับ) [73] สรุปความสำคัญของเครื่องมือชี้วัดทางชีวภาพของการทำงานของไตแต่ละชนิดในตารางที่ 2.8



แผนภูมิรูปภาพที่ 2.1 สารไซโตคายน์แบ่งตามกลุ่ม pro-inflammatory และ anti-inflammatory และขนาดโมเลกุล; CRP, C-reactive protein; IL, interleukin; MDF, myodepressant factor; MIF, macrophage inhibiting factor; PAF, platelet-activating factor; sTNFR-I, sTNFR-II, tumor necrosis factor receptors I and II; TGF, transforming growth factor; TNF, tumor necrosis factor

ตารางที่ 2.7 สารไซโตคายน์ที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อในกระแสเลือด

Cytokine	Effect	Primary source (s)
TNF α	Pro-inflammatory	Innate immune and T _H 1 cells
IL-1 β	Pro-inflammatory	Innate immune cells
IFN γ	Pro-inflammatory	T _H 1 cells
IL-2	Pro-inflammatory	T _H 1 cells
IL-17	Pro-inflammatory	T _H 1 and T _H 17 cells
IL-18	Pro-inflammatory	Innate immune cells
GM-CSF	Pro-inflammatory	T _H 1 cells
MIF	Pro-inflammatory	Innate immune and T _H 1 cells
IL-6	Mixed	Innate immune, T _H 1, and endothelial cells
IL-4	Anti-inflammatory	T _H 2 cells
IL-10	Anti-inflammatory	Innate immune, T _H 2, and T _{reg} cells
TGF β	Anti-inflammatory	Innate immune, T _H 2, and T _{reg} cell
Chemokine	Target	
IL-8	Neutrophils	
CCL5	T cells, eosinophils	
MCP-1	Monocytes, T cells, dendritic cells	

TNF = Tumor necrosis factor; IL = Interleukin; IFN = Interferon; GM-CSF = Granulocyte macrophage colony-stimulating factor; MIF = Macrophage migration inhibitory factor; TGF = Transforming growth factor; MCP = Monocyte chemoattractant protein.

2.9 Interleukin-18 (IL-18)

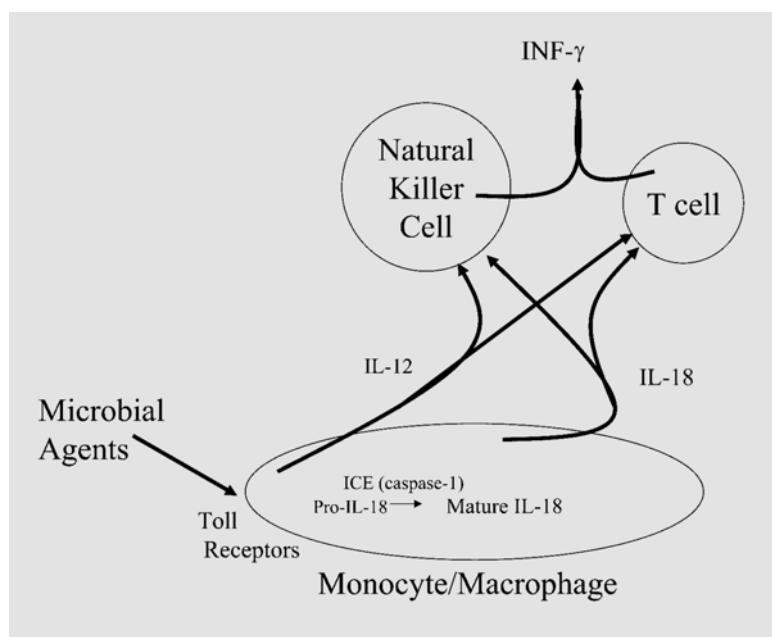
เดิม IL-18 จัดเป็น interferon gamma (IFN- γ) inducing factor เช่นเดียวกับ IL-12 แต่เนื่องจากมีคุณสมบัติที่สัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด จึงถูกแยกออกมาเป็น IL-18 ชัดเจนในปัจจุบัน จัด IL-18 เป็นสารไซโตคายน์กลุ่ม pro-inflammatory cytokine ที่มีความสำคัญทางระบบภูมิคุ้มกันร่างกายทั้งแบบ innate และ acquired มีบทบาทสำคัญในการปกป้อง host จากมะเร็งและการติดเชื้อต่างๆ หลังจากจากเซลล์ macrophages ที่ถูกกระตุ้น (activated macrophages) จากสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ทั้งนี้ ยังมีเซลล์อื่นๆ อีกมากมายในร่างกายที่สัมพันธ์กับการแสดงออก (expression) ของ IL-18 ได้แก่ mononuclear cells, keratinocytes, osteoblasts, intestine และ renal epithelial cells, และ dendritic cells เป็นต้น มีรายงานว่า การ neutralization ระดับของ IL-18 ในเลือดให้เป็นปกติด้วยการฉีด antibody [74]

การให้ exogenous IL-18 binding protein (IL-18BP) [75] หรือ การยับยั้ง caspase-1 [76] จะลดการเกิดกระบวนการอักเสบและป้องกันการเกิด liver necrosis ได้ในการทดลองในหนู โดยเฉพาะการให้ exogenous IL-18BP ยังมีรายงานว่าเป็นการรักษา collagen-induced arthritis ที่มีประสิทธิภาพในหนูทดลอง [77] รวมทั้งเชื่อว่าจะลด ischemic dysfunction ของกล้ามเนื้อหัวใจใน suprafused human atrial myocardium model [78] และลดกระบวนการอักเสบใน rheumatoid arthritis [79] ดังนั้น จากการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง IL-18 ทั้งหมดนี้ จึงเป็นที่มาของข้อสรุปว่า IL-18 มีบทบาทเป็น สารตัวกลางในภาวะต่างๆ ได้แก่ ischemic AKI, intestinal ischemia, cardiac ischemia, brain ischemia และ arthritis เป็นต้น และมีเอนไซม์ caspase-1 กระตุ้นให้เปลี่ยนเป็น mature form [24] **รูปที่ 2.11**

Caspase-1 (เดิมชื่อ interleukin-1 β -converting enzyme หรือ ICE) มีคุณสมบัติเป็นตัวกระตุ้นสารไซโตไคน์กลุ่ม pro-inflammatory cytokines เช่น IL-1 β และ IL-18 [80] พบว่าในหนูทดลองที่ขาด caspase-1 จะเกิด ischemic AKI จากการตรวจวัดระดับครีตินีน และคำนวณค่า acute tubular necrosis score ที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม [81] อย่างไรก็ตาม ในขณะที่พบว่า IL-1 β ไม่ได้มีบทบาทใน ischemic AKI ในหนู [82] กลับพบว่าการขาด active form ของ IL-18 จากผลของภาวะ caspase-1 deficiency ทำให้อุบัติการณ์การเกิด AKI ในหนูลดลง และให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาที่ฉีด IL-18 neutralizing antiserum ในหนูปกติ (wide-type mice) ก่อนที่จะมี ischemic AKI [81,83] เช่นเดียวกับการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ในหนูกลุ่ม IL-18 binding protein transgenic mice กลุ่มที่ได้รับ binding protein หรือกลุ่ม IL-18 deficiency mice ล้วนสนับสนุนว่า IL-18 เป็นสารตัวกลางของ AKI [84,85] นอกจากนี้ ยังพบว่าในไตของหนูที่มีภาวะไตวายฉับพลัน มีการแสดงออกของ IL-18 เพิ่มมากขึ้นและการยับยั้ง IL-18 ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดภาวะไตวายฉับพลัน [81,83-85]

ผลจากหลายการศึกษาแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างภาวะที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด และระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งความสัมพันธ์กับความรุนแรงของการติดเชื้อ และอัตราการเสียชีวิต [86] จากการศึกษาวัดระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในผู้ป่วยที่มีการบาดเจ็บรุนแรง (multiple trauma) และติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรงด้วยวิธี whole blood cultures ผ่านการกระตุ้น ex vivo ด้วย Cowen strain ของ Staphylococcus aureus และ lipopolysaccharide (LPS) พบว่ามีระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดของกลุ่มทดลองมีมากกว่า และไม่สามารถถูกยับยั้งด้วยเอนไซม์ caspase-1 เปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรปกติ [87] การศึกษาขนาดเล็กในผู้ป่วย 13 คน พบว่าระดับความเข้มข้นของ IL-18 ในกระแสเลือดสัมพันธ์กับค่าคะแนน Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ [88] การศึกษาในผู้ป่วย 9 คนที่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง พบค่าระดับความเข้มข้นในกระแสเลือดของ IL-18 มีค่า $1,122 \pm 259$ พิโคกรัม/ มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับประชากรปกติ 6 คน ที่มีค่าระดับความเข้มข้นในกระแสเลือดของ IL-18 เป็น 191 ± 42 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร ที่ระดับ $p < 0.01$ [89] นอกจากนี้ การศึกษาในผู้ป่วย meliodosis 31 คน ที่มีผล *Burkholderia pseudomallei* เป็นบวกจากการเพาะเชื้อในเลือด พบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ IL-18 ที่สูงในกระแสเลือด และระดับในเลือดยังคงอยู่นานถึง 72 ชั่วโมง [90]



รูปที่ 2.11 การสร้าง IFN- γ จาก IL-18 และ IL-12

ICE, IL-1 β -converting enzyme

2.9 Vascular endothelium growth factor (VEGF)

ในอดีต VEGF มีชื่อเรียกว่า vascular permeability factor ซึ่งเป็นชื่อที่ใช้เรียกหลังค้นพบในปี ค.ศ. 1983 [91] หลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1989 ได้ค้นพบ VEGF และพบว่าทั้งสองคือสารเดียวกัน และมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างเซลล์เยื่อบุของหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) ทำให้ต่อมา มีการเปลี่ยนจากคำว่า vascular permeability factor มาเป็น VEGF [92] ปัจจุบันพบว่า VEGF มี 7 ชนิด ได้แก่ VEGF-A, -B, -C, -D, -E, -F, และ placental growth factor (PlGF) ซึ่งทั้งหมดมีคุณสมบัติและหน้าที่แตกต่างกัน โดยที่ VEGF-A เองจะมีอีกขนาดแตกต่างกันอีก 6 isoforms (คือ มี 121, 145, 165, 183, 189, และ 206 amino acid residues) VEGF-A มีบทบาทในการเกิดการขยายของหลอดเลือดผ่านการกระตุ้นของไนตริกออกไซด์ ซินเทส (endothelial nitric oxide

synthase) มีคุณสมบัติเป็น antiapoptotic effects ของ endothelium และที่สำคัญคือเป็นสารตัวกลางที่สำคัญของการเกิด vascular permeability ในภาวะที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด [93] และมีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดภาวะทุพพลภาพและอัตราการเสียชีวิตเพิ่มขึ้น [94]

VEGF หลังจากเซลล์เยื่อของหน่วยไตตั้งแต่อายุแรกเกิดจนถึงวัยผู้ใหญ่ สมมติฐานว่ามีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมส่วนที่บาดเจ็บของหน่วยไต [95] ในการทดลอง *in vitro* และ *in vivo* เมื่อกระตุ้นให้เซลล์ tubule เกิดภาวะ hypoxia พบว่ามีการหลั่งของ VEGF เพิ่มขึ้น นั่นคือ ปริมาณระดับความเข้มข้นของ VEGF ในปัสสาวะสามารถสื่อถึงภาวะการเกิด hypoxia ของหน่วยไตได้ซึ่งพบได้ในภาวะการขาดเลือดเฉียบพลัน การติดเชื้อในกระแสเลือด และภาวะไตวายเฉียบพลัน [96,97]

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ VEGF ในปัสสาวะและในเลือดกับการทำงานของไตในกลุ่มประชากรผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน แต่มีภาวะไตอักเสบชนิด IgA nephropathy (IgAN), membranous nephropathy (MN), focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), และ membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN) และกลุ่มที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันจากการขาดเลือด พบว่าระดับความเข้มข้นของ VEGF ทั้งในปัสสาวะและในเลือดแปรผกผันกับค่า creatinine clearance (CCr) [98]

ตารางที่ 2.8 สารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarkers) ของการทำงานของไตที่สำคัญต่างๆ

Protein	Description	PSTC	References
Calbindin	Calbindin D is a vitamin D-dependent calcium-binding protein of 28 kDa that is found predominantly in the epithelial cells of the distal tubules of the kidney Nephrotoxic drugs and diseases involving the distal tubule have been shown to change calbindin concentrations in urine		[99,100]
Clusterin	A glycoprotein first isolated in Sertoli cells Is present in most tissues, Is synthesized after tubular injury and protects the tubule Urine concentrations correlate with tubular damage	Yes	[101,102]
Cystatin C	13-kDa extracellular inhibitor of cysteine proteases. Serum concentrations are independent of gender, muscle mass and age Is freely filtered, reabsorbed and catabolized by the proximal tubule; there is no active excretion Urinary cystatin C concentrations are elevated in patients with tubular injury	Yes	[103,104]
Cystein-rich Protein (Cyr-61)	Is a heparin-binding protein that is secreted and associated with cell surfaces and extracellular matrix Was found to be secreted in the straight proximal tubulus only a few hours after injury It must be considered a limitation that urinary concentrations were found to decrease over time although kidney injury was progressing		[105,106]
Epidermal Growth Factor	EGF is a 53-amino-acid peptide that is produced by the ascending portion of Henle's loop and by the distal convoluted tubule It seems to modulate tissue response to injury in kidneys with tubule-interstitial damage		[107,108]

ตารางที่ 2.8 (ต่อ) สารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarkers) ของการทำงานของไตที่สำคัญต่างๆ

Protein	Description	PSTC	References
α -glutathione-S-transferase (α -GST)	Cytosolic enzyme in the proximal tubule The appearance of α -GST is due to leakage of cytosolic content into the urine, dying cells or due to shedding of viable or apoptotic cells into the urine		[109,110]
π -glutathione-S-transferase (π -GST)	Cytosolic enzyme in the distal tubule and collection duct Is released into the urine likely via the same mechanisms as α -GST Has been used together with α -GST to differentiate between proximal and distal tubule damage		[111]
Interleukin-18	IL-18 is a pro-inflammatory cytokine and its 24-kDa precursor is cleaved in the proximal tubule Urinary concentrations predict delayed transplant kidney function and acute kidney injury and correlated with its severity Seems most sensitive to ischemic injury as well as sepsis-related and seems less (or not) affected by nephrotoxins, chronic kidney disease and urinary tract infections The association between urinary and blood IL-18 concentrations is unknown (some data showed correlation)		[70,112-114]
Kidney injury molecule-1 (KIM-1)	A type 1 trans-membrane protein not detected in normal kidney tissue Is expressed at very high levels in case of dedifferentiated proximal tubules cells, after ischemic or toxic injury and in case of renal cell carcinoma A soluble form of cleaved KIM-1 can then be detected in urine	Yes	[115-117]

ตารางที่ 2.8 (ต่อ) สารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarkers) ของการทำงานของไตที่สำคัญต่างๆ

Protein	Description	PSTC	References
Microalbumin	Established molecular marker defined as urinary albumin concentrations between 30- 300 mg/L Although originally believed only to be a measure of intra-glomerular pressure and/or structural changes of the glomerular basement membrane, there is evidence that glomerular membranes normally leak albumin and that albumin is retrieved by the proximal tubulus and thus may also be a marker of proximal tubule function	Yes	[118-120]
β_2 -microglobulin	It is the 11.8-kDa light chain of the MHC I molecule expressed on the surfaces of nucleated cells Its monomeric form is filtered and reabsorbed in the proximal tubule Has been shown to be an early marker of tubular dysfunction	Yes	[121-123]
N-acetyl- β -glucosaminidase	NAG (> 130 kDa) has proximal tubule lysosomal enzyme sensitivity; subtle alterations in the epithelial cells in the brush border of the proximal tubule result in shedding of the enzyme into urine Increased NAG concentrations in urine have been found after exposure to nephrotoxic drugs, in patients with delayed renal allograft function, with acute kidney injury, with chronic glomerular disease, with diabetic nephropathy and following cardiopulmonary bypass		[124,125]
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)	NGAL is a lysosomal enzyme that seems to play a role in apoptosis, triggers nephrogenesis by stimulating the conversion of mesenchymal cells into kidney epithelium and, in the kidney, is mainly located in the proximal tubule Its size is about 25 KD and it is protease resistant; it is filtered by the kidney and its plasma/urine		[68,69,126]

ตารางที่ 2.8 (ต่อ) สารวินิจฉัยทางชีวภาพ (biomarkers) ของการทำงานของไตที่สำคัญต่างๆ

Protein	Description	PSTC	References
	<p>concentration relationship will require further clarification</p> <p>There is evidence that NGAL may be useful as a sensitive and predictive marker of ischemia/ reperfusion, acute kidney injury, nephrotoxicity and chronic kidney disease</p>		
Trefoil factor 3	<p>Mainly expressed in the gastrointestinal mucosa; the trefoil protein family is typically involved in cell protection and repair; in the intestine, trefoil factor 3 protects the mucosa from the degradation effect of HCl by stimulating the goblet cells to synthesize mucin</p> <p>Although the exact role of trefoil factor 3 in the kidney is not yet published, it can be expected to have a protective role in the kidney</p>	Yes	[127-129]
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	<p>Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an important stimulator of angiogenesis; circulating and urinary VEGF levels have been suggested as clinically useful predictors of tumor behavior</p> <p>VEGF is also a mediator during inflammation</p> <p>Urinary VEGF seems to be of advantage over plasma since venepuncture activates platelets and may release cytokines, including VEGF, artificially elevating measured VEGF levels</p> <p>VEGF concentrations in urine were found to be associated with alloimmune process against kidney transplants</p> <p>VEGF may be involved in remodeling after injury leading to increased urinary concentrations</p>		[130-134]

PSTC, Predictive Safety Testing consortium; รายละเอียดใน European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

Prospective, randomized clinical trial

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

3.2.1 ประชากรที่ศึกษา

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อในกระแสเลือด และมีภาวะไตวายเฉียบพลันที่จำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent hemodialysis, IHD) โดยใช้นิยามภาวะไตวายเฉียบพลัน RIFLE criteria ที่ระดับความรุนแรง F และใช้เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดตาม International Sepsis Definitions Conference [135,136] ตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดตาม SCCM/ ESICM/ ACCP/ ATS/ SIS International Sepsis Definitions Conference

Infection, documented or suspected, and some of the following:
General Variables Fever [†] (core temperature >38.3°C) Hypothermia [†] (core temperature <36°C) Heart rate >90 beats per minute [†] or >2 SD above the normal value for age Tachypnea Altered mental status Significant edema or positive fluid balance (>20 mL/kg over 24 hr) Hyperglycemia (plasma glucose >120 mg/dL or 7.7 mmol/L) in the absence of diabetes
Inflammatory Variables Leukocytosis [†] (WBC count >12,000/ μ L) Leukopenia [†] (WBC count <4000/ μ L) Normal WBC count with >10% immature forms [†] Plasma C-reactive protein >2 SD above the normal value
Hemodynamic Variables Arterial hypertension (SBP <90 mm Hg, MAP <70, or an SBP decrease >40 mm Hg in adults or <2 SD below normal for age)

Hemodynamic Variables (con't) Svo ₂ >70% Cardiac index >3.5 L/min/m ²
Organ Dysfunction Variables Arterial hypoxemia (PaO ₂ /FIO ₂ <300) Acute oliguria (urine output <0.5 mL/kg/hr or 45 mmol/L for at least 2 hr) Creatinine increase >0.5 mg/dL Coagulation abnormalities (INR >1.5 or aPTT >60 sec) Ileus (absent bowel sounds) Thrombocytopenia (platelet count <100,000/μL) Hyperbilirubinemia (plasma total bilirubin >4 mg/dL or 70 mmol/L)
Tissue Perfusion Variables Hyperlactatemia (>1 mmol/L) Decreased capillary refill or mottling

† เกณฑ์ที่เลือกใช้ในการวินิจฉัยนี้; aPTT, activated partial thromboplastin time; Flo₂, fraction of inspired oxygen; INR, international normalized ration; MAP, mean arterial pressure; PaO₂, arterial partial pressure of oxygen; SBP, systolic blood pressure; SD, standard deviation; Svo₂, mixed venous oxygen saturation; WBC, white blood cell

ในการวินิจฉัยนี้ ใช้เกณฑ์การวินิจฉัยการติดเชื้อในกระแสเลือดเพียง 2 ข้อ ได้แก่

1. มีอาการ อาการแสดง หรือผลทางห้องปฏิบัติการ 2 ใน 4 ข้อของภาวะดังต่อไปนี้

- อุณหภูมิร่างกายมากกว่า 38.3 หรือ น้อยกว่า <36.0 องศาเซลเซียส
- อัตราการเต้นของหัวใจมากกว่า 90 ครั้ง/ นาที
- อัตราการหายใจมากกว่า 20 ครั้ง/ นาที หรือ
ค่า PaCO₂ น้อยกว่า 32 มิลลิเมตรปรอท
- จำนวนเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดมากกว่า 12,000 เซลล์/ มิลลิลิตร หรือน้อยกว่า 4,000 เซลล์/ มิลลิลิตร หรือ มีเม็ดเลือดขาวในระยะ band form มากกว่าร้อยละ 10

2. มีหลักฐานการติดเชื้อของระบบต่างๆ ในร่างกาย

(ผลเพาะเชื้อในกระแสเลือด การย้อม Gram stain ของเสมหะ, ปัสสาวะ, หรือสารคัดหลั่งต่างๆ ในร่างกายให้ผลบวกเป็น pathogenic microorganism; หรือมีหลักฐานตำแหน่งของการติดเชื้อชัดเจน เช่น ภาวะการฉีกขาดของลำไส้ (ruptured bowel with free air or bowel contents found in abdomen at surgery) หรือ มีหนองบริเวณบาดแผล เป็นต้น

3.2.2 เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยติดเชื้ในกระแสเลือดซึ่งมีภาวะไตวายฉับพลัน และจำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือด
2. ผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมที่สามารถให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษา

3.2.3 เกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีอายุต่ำกว่า 18 ปี
2. ไม่มีผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมที่สามารถให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษา
3. ผู้ป่วยที่มีสภาพร่างกายไม่เหมาะสมในการฟอกเลือด
4. ผู้ป่วยที่ได้รับยากระตุ้นความดันโลหิต (vasopressin) ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป

3.2.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size)

เมื่อกำหนดให้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

$$Z_{\alpha} = Z_{0.05/2} = 1.96 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 0.84 \text{ (80% power)}$$

$$\text{สูตร } n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})\sigma}{\mu_0 - \mu_1} \right]^2$$

ค่าอ้างอิงจากการศึกษาของ Kuo HL [59] พบว่า $\sigma = 64.9$; $\mu_0 = 344.21$ และ $\mu_1 = 267.44$

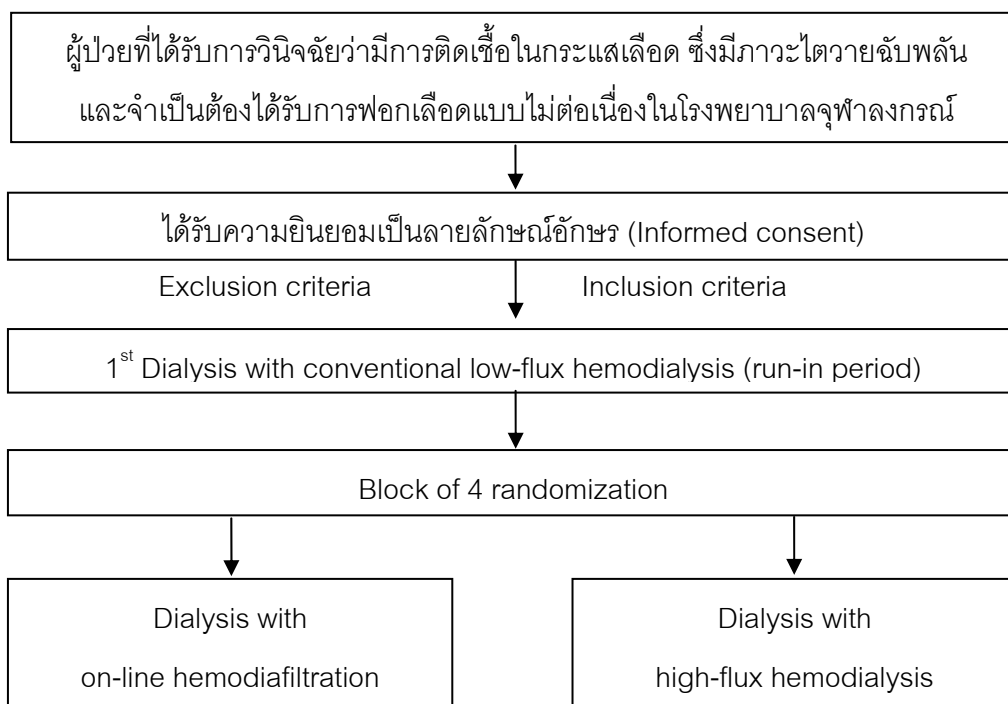
แทนค่าในสมการ

$$\begin{aligned} n &= 2[181.72 / 76.77]^2 \\ &= 11.21 \end{aligned}$$

เนื่องจากในระหว่างการศึกษา ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตจึงขอเพิ่มจำนวนประชากรตัวอย่างร้อยละ 20 นั่นคือ ในการศึกษาี้ควรมีขนาดตัวอย่างที่ทำการศึกษารวมอย่างน้อย 28 คน (กลุ่มละ 14 คน)

3.3 การดำเนินการวิจัย

3.3.1 วิธีการวิจัย



แผนภูมิรูปภาพที่ 3.1 วิธีการวิจัย

3.3.2 เครื่องมือและวิธีการศึกษา

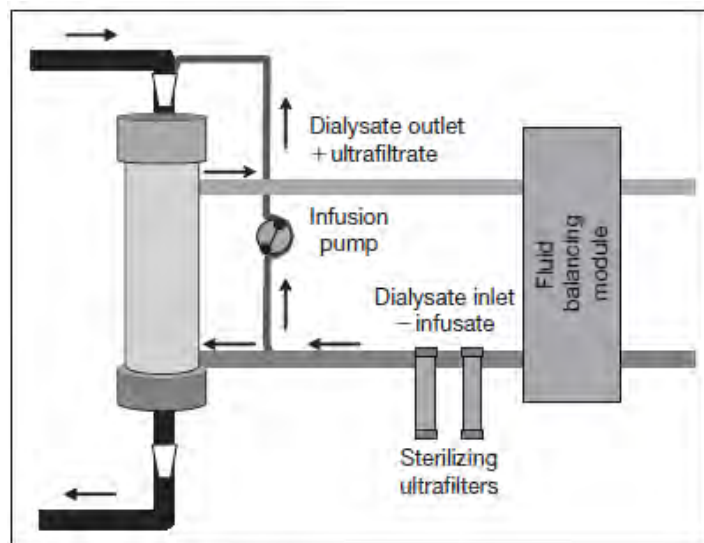
เครื่องฟอกเลือด : Nikkiso®

ตัวกรอง (dialyzer) ของ Nipro รุ่น PUREFLUX-150H ขนาดพื้นที่ผิว 1.5 ตารางเมตร

อัตราการไหลของเลือด (Q_D) 300-350 มิลลิลิตรต่อนาที

ระยะเวลาในการฟอกเลือด 4 ชั่วโมง

การฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration การเติมสารน้ำทดแทนหน้าตัวกรอง (pre-dilution) โดยมีอัตราการให้สารน้ำคิดเป็นร้อยละ 40 ของอัตราเร็วของเลือดที่เปิดได้ ส่วนประกอบของน้ำยาไดอะไลซิส (dialysate) ประกอบด้วย โซเดียม (135-145 mEq/ ลิตร) โปแตสเซียม (3-4 mEq/ ลิตร) แคลเซียม (2.5-3.5 mEq/ ลิตร) คลอไรด์ (105-110 mEq/ ลิตร) ไบคาร์บอเนต (30-35 mEq/ ลิตร) และแมกนีเซียม 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร อัตราการไหลของน้ำยาไดอะไลซิส (dialysate flow) 800 มิลลิลิตรต่อนาที **รูปที่ 3.1**



รูปที่ 3.1 การฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration รูปแบบการเติมสารน้ำทดแทนหน้าตัวกรอง (predilution on-line hemodiafiltration) [137]

การฟอกเลือดแบบวิธี high-flux hemodialysis (กลุ่มควบคุม) ใช้ตัวกรองแบบเดียวกัน รวมทั้งควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้วให้เหมือนกับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration

3.3.3 ตัวแปรในงานวิจัย

- ระดับ interleukin-18 (IL-18) ในเลือด
- ระดับ vascular endothelial growth factor (VEGF) ในเลือด
- ระดับ urea ในเลือด
- ระดับอัลบูมินในเลือด
- ระดับอัลบูมินในตัวอย่างน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (effluent)

3.3.4 การวัด

ในการทำการฟอกเลือดในแต่ละครั้ง จะมีการเก็บตัวอย่างดังนี้

- เก็บเลือดจากเส้นเลือดส่วนปลาย เพื่อส่งตรวจวัดระดับไซโตคัยน์ IL-18, VEGF และระดับ urea ก่อนทำการฟอกเลือด (baseline) และที่ชั่วโมงที่ 4 (end)
- เก็บเลือดจากสายนำเลือดแดง (arterial blood line, prefilter) และสายนำเลือดดำ (venous blood line, postfilter) หลังออกจากตัวกรอง รวมทั้งการเก็บตัวอย่างน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (effluent) ก่อนทำการฟอกเลือด (start) และที่ชั่วโมงที่ 4 (end)

- เทคนิคในการเก็บเลือดตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 4 (end) ใช้วิธี slow flow technique [138] โดย การปิด dialysate flow และลด ultrafiltration rate ที่ 50 มิลลิลิตร/ ชั่วโมง จากนั้นลด blood flow rate ที่ 50-100 มิลลิลิตร/ ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 15 นาที แล้วดูดเก็บเลือดเพื่อเป็นตัวอย่างเลือดส่ง ตรวจที่ arterial needle หรือ port หยุด blood pump หลังจากนั้นดำเนินขั้นตอนเพื่อ disconnection จากผู้ป่วย

- นำตัวอย่างเลือดที่ได้ส่งตรวจ หรือปั่นแยกซีรัมถ้ายังไม่ได้รับการตรวจทันที โดยจะเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการตามเฉพาะที่ได้กำหนดไว้ ข้างต้น

3.3.5 เครื่องมือและวิธีการวัดค่าระดับความเข้มข้น IL-18

3.3.5.1 เครื่องมือ

ตัวทดสอบ Human IL-18 ELISA Kit

3.3.5.2 การเตรียมสาร reagents

1. Wash solution

เจือจางสารละลาย wash concentrate 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ซึ่งจะสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้นาน 2 สัปดาห์

2. Conjugate solution

เจือจางสาร peroxidase conjugated anti-human IL-18 monoclonal antibody ด้วยสารละลาย conjugate diluent ในอัตราส่วน 1:101 โดยการผสมสาร peroxidase conjugated anti-human IL-18 monoclonal antibody 10 ไมโครลิตร ในสารละลาย conjugate diluent 1,000 ไมโครลิตร

3. Standard solution

เตรียมจากสารละลาย assay diluent

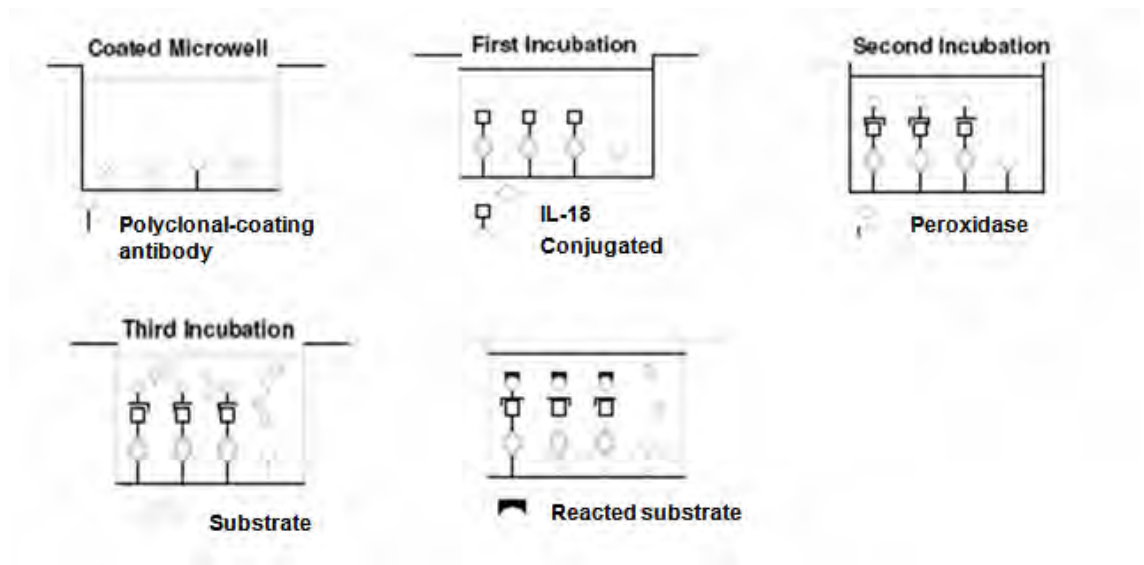
3.3.5.3 การเตรียมสารตัวอย่าง (sample)

เจือจาง sample ด้วย assay diluent ในอัตราส่วน 1:5 โดยใช้ sample 50 ไมโครลิตร ผสม ใน assay diluents 200 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำยา samples ที่เตรียมเรียบร้อยแล้วพร้อม standard ใน polyvinyl plate 96 หลุม ตามลำดับ

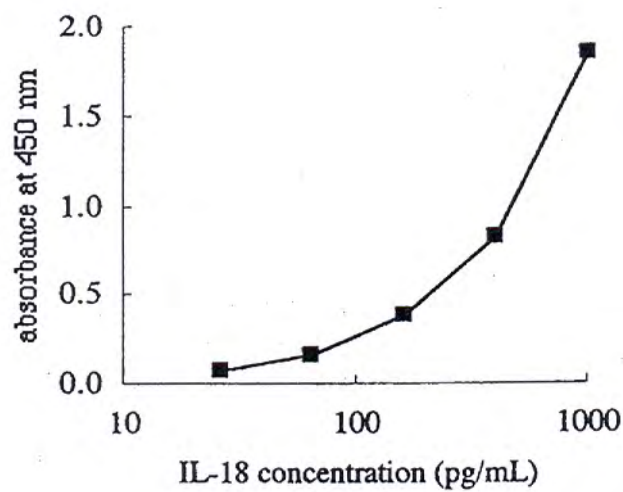
3.3.5.4 การทดสอบ (รูปที่ 3.2)

1. การผสมสารตัวอย่าง (sample incubation)

- 1.1 ใช้ปิเปต multichannel ดูดน้ำยา sample 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม microwell ที่มี antibody เคลือบอยู่ด้านล่าง
 - 1.2 Incubate ที่อุณหภูมิห้อง 20-25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที
 2. การล้าง (washing)
 - ดูดน้ำยาออก และล้าง microwell ซ้ำๆ รวม 4 ครั้งด้วย wash solution
 3. การผสมสาร conjugate (conjugate incubation)
 - 3.1 ใช้ปิเปต multichannel ดูดน้ำยา conjugate 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม
 - 3.2 Incubate ที่อุณหภูมิห้อง 20-25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที
 4. การล้าง (washing)
 - ดูดน้ำยาออก และล้าง microplate ซ้ำๆ รวม 4 ครั้งด้วย wash solution
 5. การผสมสาร substrate (substrate incubation)
 - 5.1 ใช้ปิเปต multichannel ดูดน้ำยา substrate reagent 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม
 - 5.2 Incubate ที่อุณหภูมิห้อง 20-25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที
 6. การสิ้นสุดปฏิกิริยา (stop reaction)
 - ใช้ปิเปต multichannel ดูดน้ำยา stop solution 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม
 7. อ่านผลด้วยเครื่อง optical densitometry (OD) ภายในระยะเวลา 30 นาที โดยใช้คลื่นแสงช่วง 450 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปกำหนดจุดตัดเพื่อสร้างกราฟ semi-log ที่กำหนดให้แกน Y เป็นค่า absorbance และแกน X เป็นค่าความเข้มข้น (หน่วยเป็นพิโคกรัม/ มิลลิลิตร)
- แผนภูมิกราฟที่ 3.1** ซึ่งค่าระดับความเข้มข้นของ IL-18 ของ samples ที่อ่านได้จากกราฟ ต้องคูณด้วยค่า dilution factor ก่อนรายงานผล



รูปที่ 3.2 การตรวจระดับ interleukin-18 (IL-18) ในเลือดโดยวิธี ELISA



แผนภูมิกราฟที่ 3.1 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของการวัด IL-18

3.3.5.5 ค่าอ้างอิงระดับความเข้มข้นของ IL-18 ของตัวทดสอบ Human IL-18 ELISA Kit

ค่าสูงสุด (maximum)	= 257.8 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร
ค่าต่ำสุด (minimum)	= 36.1 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร
ค่าเฉลี่ย (mean)	= 126.0 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	= 44.5 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร
ค่าเฉลี่ย+3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean+3SD)	= 259.4 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร

ทั้งนี้ Human IL-18 ELISA Kit มีค่า intra-assay และ inter-assay ร้อยละ 7.26 และ 7.53 ตามลำดับ

3.3.6 เครื่องมือและวิธีการวัดค่าระดับความเข้มข้น VEGF

3.3.6.1 เครื่องมือ

ตัวทดสอบ MILLIPLEX® MAP VEGF

เครื่องอ่านผลทดสอบ Luminex® xMAP® Technology

3.3.6.2 การเตรียมสาร reagents

1. การเตรียมสาร Antibody-Immobilized Beads

ผสม/ เขย่าสาร beads ในแต่ละ vial ให้เข้ากัน 30 วินาที และวางปบ vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นดูดน้ำยาในแต่ละ vial bead ปริมาตร 60 ไมโครลิตรลงในขวดเปล่าที่เตรียมไว้สำหรับผสม (mixing bottle) เติมน้ำยา bead diluents ปริมาตร 2.7 มิลลิลิตรให้ได้ปริมาตรรวม 3 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันด้วย vortex

2. การเตรียมสารละลายควบคุม (quality controls)

เจือจางสาร quality control 1 และ 2 ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสม/ เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย vortex จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5-10 นาที

3. การเตรียมสารละลาย wash buffer

เจือจางสารละลายเข้มข้น 10X wash buffer 30 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 270 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้น้ำยา wash buffer 300 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลาย serum matrix

เจือจางสาร lyophilized serum matrix ในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสม/ เขย่าสารให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

5. การเตรียมสารละลาย human cytokine standard

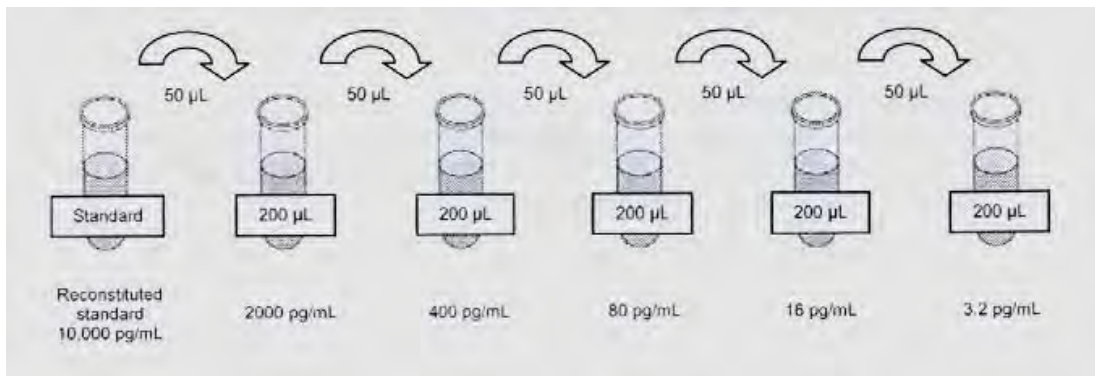
ผสมสาร human cytokine standard ในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 10,000 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร ผสม/ เขย่าสารให้รวมเป็นเนื้อเดียวกันด้วย vortex ใช้สารละลาย human cytokine standard นี้เป็นสารละลายตั้งต้นความเข้มข้น 10,000 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร

6. การเตรียมสารละลาย working standard

เขียนฉลากบนหลอดทดลอง polypropylene microfuge tube กำหนดความเข้มข้นเป็น 2,000, 400, 80, 16 และ 3.2 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร เติมสารละลาย assay buffer

ปริมาตร 200 ไมโครลิตรในแต่ละหลอด ใช้ปิเปตดูดสารละลาย human cytokine standard ความเข้มข้น 10,000 พิโคกรัม/ มิลลิลิตรที่เตรียมไว้ปริมาตร 50 ไมโครลิตรผสมลงในหลอดทดลองที่มีความเข้มข้น 2,000 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร จากนั้นทำซ้ำที่ความเข้มข้น 400, 80, 16 และ 3.2 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายเจือจางในอัตราส่วนลดลงตามลำดับ

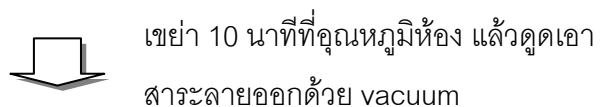
รูปที่ 3.3 ทั้งนี้ จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงสุด (high standard) เป็น 10,000 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร และสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำสุดเป็น 3.2 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม ต้องกำหนดให้มีสารละลาย 0 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร เป็น background หรือ zero standard ด้วย



รูปที่ 3.3 การเจือจางสารละลาย working standard

3.3.6.3 การทดสอบ

1. เตรียมสารละลาย assay buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลอด



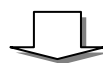
2. เติมสารละลาย standard หรือ control ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลอด



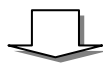
3. เติมสารละลาย assay buffer ปริมาตร 25 ไมโครลิตรลงในหลอด background และ sample



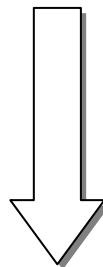
4. เติม sample ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลอด sample แต่ละหลอด



5. เติมสารละลาย matrix ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลอด background, standard และ control



6. เติมสาร beads ลงในแต่ละหลุม



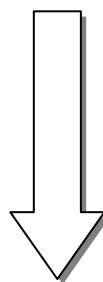
เขย่า incubate overnight ที่อุณหภูมิห้อง 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นดูดเอาสารละลายออกด้วย vacuum และล้างด้วยสารละลาย wash buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง

7. เติมสารละลาย detection antibody ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม



เขย่า incubate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

8. เติมสารละลาย Streptavidin-Phycoerythrin ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม



เขย่า incubate เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นดูดเอาสารละลายออกด้วย vacuum และล้างด้วยสารละลาย wash buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง

9. เติมสารละลาย sheath fluid ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม



เขย่า incubate เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

10. นำ plate เข้าเครื่อง Luminex® เพื่ออ่านผล

(ตั้งค่าการอ่านผลที่ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ 50 beads ต่อ bead set)

นำค่าระดับ median fluorescent intensity (MFI) ที่ได้เข้าโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้ weighted 5-parameter logistic หรือ spline curve-fitting method ในการคำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

3.3.6.4 ค่าอ้างอิงระดับความเข้มข้นของ MILLIPLEX® MAP VEGF

ค่าเฉลี่ย (mean) = 220 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร

พิสัย (range) = 62-707 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร

ทั้งนี้ MILLIPLEX® MAP VEGF มีค่า intra-assay และ inter-assay precision ร้อยละ 5.8 และ 7.9 ตามลำดับ

3.2.6 การคำนวณ

- คำนวณค่า clearance rates ของสารไซโตไคน์ IL-18 และ VEGF ในกระแสเลือดจากสมการ [139]

$$\text{Clearance} = \frac{C_a Q_a - C_v (Q_v - UF)}{C_a}$$

กำหนดให้	C_a	= ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ที่ตำแหน่ง arterial line (afferent) (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)
	Q_a	= อัตราเร็วของสารที่ตำแหน่ง arterial line (มิลลิลิตร/ นาที) = blood flow rate (Q_B)
	C_v	= ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ที่ตำแหน่ง venous line (efferent) (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)
	Q_v	= อัตราเร็วของสารที่ตำแหน่ง venous line (มิลลิลิตร/ นาที) = blood flow rate (Q_B)
	UF	= ultrafiltration = 0 (เนื่องจากหยุด ultrafiltration ขณะเก็บตัวอย่างเลือด) (มิลลิลิตร)

$$\text{นั่นคือ Clearance} = \frac{Q_B (C_a - C_v)}{C_a} \quad (\text{มิลลิลิตร/ นาที})$$

คำนวณค่า clearance rate ของสารไซโตไคน์ IL-18 และ VEGF ในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (effluent) จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Clearance} = \frac{C_D V}{C_a} \quad (\text{มิลลิลิตร/ นาที})$$

กำหนดให้	C_D	= ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ในน้ำ effluent (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)
	V	= ปริมาตรของน้ำ effluent (มิลลิลิตร)
	C_a	= ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ที่ตำแหน่ง arterial line (afferent) (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)

- คำนวณค่าร้อยละการลดลงของสารไซโตไคน์ (percentage of cytokine reduction) จากสมการ

$$\% \text{ Reduction of cytokine} = \frac{(C_{\text{pre}} - C_{\text{post}})}{C_{\text{pre}}} \times 100$$

กำหนดให้ C_{pre} = ความเข้มข้นของสารที่วัดได้ก่อนการฟอกเลือด (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)

C_{post} = ความเข้มข้นของสารที่วัดได้หลังการฟอกเลือด (พิโคกรัม/ มิลลิลิตร)

ทั้งนี้ค่าที่ได้จะถูกนำมาเทียบสัดส่วนกับปริมาตรสารน้ำที่ดึงออกจากตัวผู้ป่วย (ultrafiltrate) โดยการนำมาคูณด้วย ($Hct_{\text{pre}} - Hct_{\text{post}}$)

- วัดระดับความดัน mean arterial pressure (MAP) และบันทึกทุก 30 นาที รวมทั้งปรับขนาดยากระตุ้นความดันโลหิตหากผู้ป่วยมีความดันโลหิตต่ำลง โดยรักษาค่า MAP มากกว่า 75 มิลลิเมตรปรอท

- คำนวณค่า Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II [140] และค่า Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) [141]

3.4 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ข้อมูลทั้งหมด และผลการตรวจเลือดต่างๆ จะได้รับการบันทึกลงในแบบเก็บข้อมูลโดยผู้วิจัย เป็นผู้รวบรวม

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

การสรุปข้อมูลทั่วไป ข้อมูลเชิงปริมาณ นำเสนอรูปค่าเฉลี่ย สัดส่วน ร้อยละ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ย geometric mean แผนภูมิรูปภาพ และกราฟเปรียบเทียบ

การทดสอบสมมติฐาน ใช้ Chi-square หากข้อมูลเก็บได้เป็นลักษณะการกระจายข้อมูลปกติ (normal distribution) หรือใช้ Mann-Whitney U test ในกรณีที่ข้อมูลไม่เป็นลักษณะการกระจายข้อมูลปกติ กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 และค่าระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

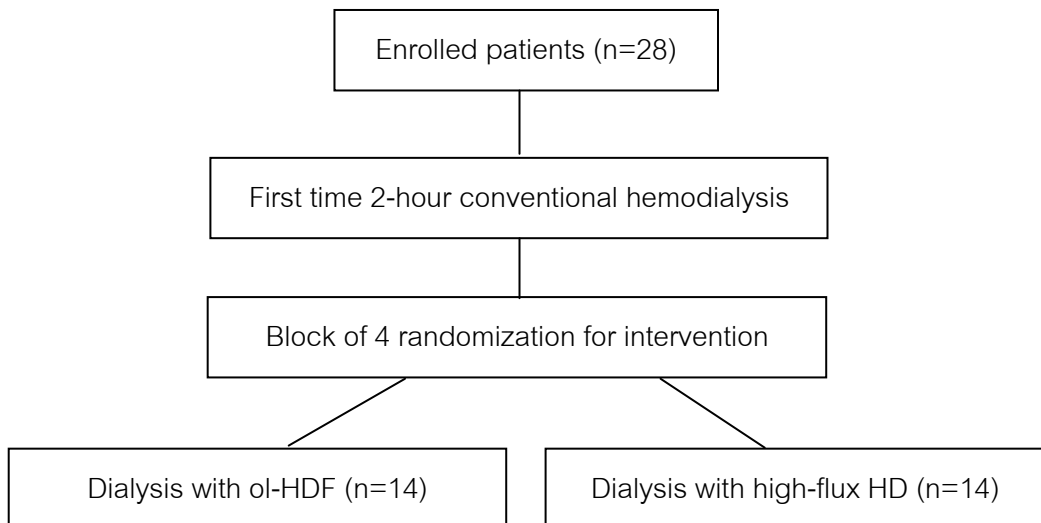
สถิติคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS version 17

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษามีทั้งหมด 28 ราย แบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration และวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis กลุ่มละ 14 รายเท่ากัน แผนภูมิรูปภาพที่ 4.1



แผนภูมิรูปภาพที่ 4.1 ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา

Ol-HDF, on-line hemodiafiltration; high-flux HD, high-flux hemodialysis

ผู้ป่วยทุกรายได้รับการวินิจฉัยว่ามีการติดเชื้อในกระแสเลือด ร่วมกับมีภาวะไตวายเฉียบพลัน ตาม RIFLE criteria ที่ระดับความรุนแรง F และจำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent hemodialysis) โดยพบว่าผู้ป่วยทุกรายมีภาวะไตวายร่วมกับมีหลักฐานการติดเชื้อในกระแสเลือด แบ่งเป็นผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 1 ราย (คิดเป็นร้อยละ 3.6) และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 27 ราย (คิดเป็นร้อยละ 96.4) หากจำแนกตามระบบพบมีการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ 12 ราย (คิดเป็นร้อยละ 42.9) ระบบทางเดินหายใจ 3 ราย (คิดเป็นร้อยละ 21.4)

และไม่สามารถบ่งชี้ระบบที่มีการติดเชื้อแต่พบมีการติดเชื้อในกระแสเลือด 13 ราย (คิดเป็นร้อยละ 46.4)

ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีอายุเฉลี่ยมากกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis คือ 62.6 ± 14.6 และ 56.6 ± 18.8 ($p = NS$) นอกจากนี้ อัตราส่วนของเพศหญิงต่อเพศชายของผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีมากกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis คือ 1.8:1 เปรียบเทียบกับ 0.75:1 ตามลำดับ

พบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีระดับความเข้มข้นของเลือด (hemoglobin), จำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell count), จำนวนเกล็ดเลือด (platelet count), ระดับยูเรียไนโตรเจน (BUN), ครีตินีน (creatinine), C-reactive protein (CRP) และฟอสเฟต (phosphate) ในกระแสเลือดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ **ตารางที่ 4.1**

เช่นเดียวกับระดับความรุนแรงของโรคที่ประเมินจากการคำนวณค่า Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II และค่า Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของ APACHE II และ SOFA เป็น 24.5 ± 7.2 และ 9.9 ± 4.9 ซึ่งมากกว่าค่าเฉลี่ย APACHE II และ SOFA ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis ที่ได้ 23.6 ± 5.1 และ 9.6 ± 2.4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่า APACHE II และ SOFA ของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ตารางที่ 4.1 ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย

	On-line HDF (N = 14)	High-flux HD (N = 14)	<i>p</i> -value
Age (years)	62.6 ± 14.6	56.6 ± 18.8	NS
Gender, n (%)			
Female	9 (64.3)	6 (42.9)	-
Male	5 (35.7)	8 (57.1)	-
Systolic blood pressure (mm Hg)	110.4 ± 16.1	116.9 ± 10.8	NS
Diastolic blood pressure (mm Hg)	69.0 ± 12.6	70.5 ± 11.9	NS
Mean arterial pressure (mm Hg)	80.6 ± 14.9	82.4 ± 14.8	NS
APACHE II score	24.6 ± 7.2	23.6 ± 5.1	NS
SOFA score	9.9 ± 4.9	9.6 ± 2.4	NS
Hb (g/dL)	9.6 ± 1.6	9.6 ± 1.4	NS
WBC count (x10 ³ /μL)	16.0 ± 9.2	15.8 ± 4.4	NS
Platelet (x10 ³ /μL)	149.9 ± 86.3	174.5 ± 74.9	NS
BUN (mg/dL)	83.5 ± 4.9	86.8 ± 5.2	NS
Creatinine (mg/dL)	6.7 ± 1.2	6.9 ± 1.4	NS
Sodium (mEq/L)	138.8 ± 4.8	135.4 ± 5.5	NS
Potassium (mEq/L)	4.8 ± 0.7	4.4 ± 1.1	NS
Bicarbonate (mEq/L)	12.9 ± 4.3	13.7 ± 4.2	NS
Phosphate (mg/dL)	5.8 ± 1.7	5.9 ± 1.5	NS
C-reactive protein (mg/L)	75.9 ± 65.6	71.2 ± 51.5	NS
Fever, n (%)	14 (100.0)	14 (100.0)	-
Hemoculture, n (%)			
Gram positive	0 (0.0)	1 (7.1)	-
Gram negative	14 (100.0)	13 (92.9)	-
Sites of infection, n (%)			
Respiratory tract	1 (7.1)	2 (14.3)	-
Urinary tract	7 (50.0)	5 (35.7)	-

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย

	On-line HDF (N = 14)	High-flux HD (N = 14)	p-value
Indication of hemodialysis, n (%)			
Hypercatabolic state	7 (50.0)	8 (57.2)	-
Uremia	4 (28.6)	3 (21.4)	-
Severe acidosis	3 (21.4)	3 (21.4)	-
Blood flow rate (Q _b) (mL/min)	327.8 ± 14.6	322.1 ± 11.5	NS
Ultrafiltrate (mL)	1,394.6 ± 177.3	1,215.3 ± 138.4	NS

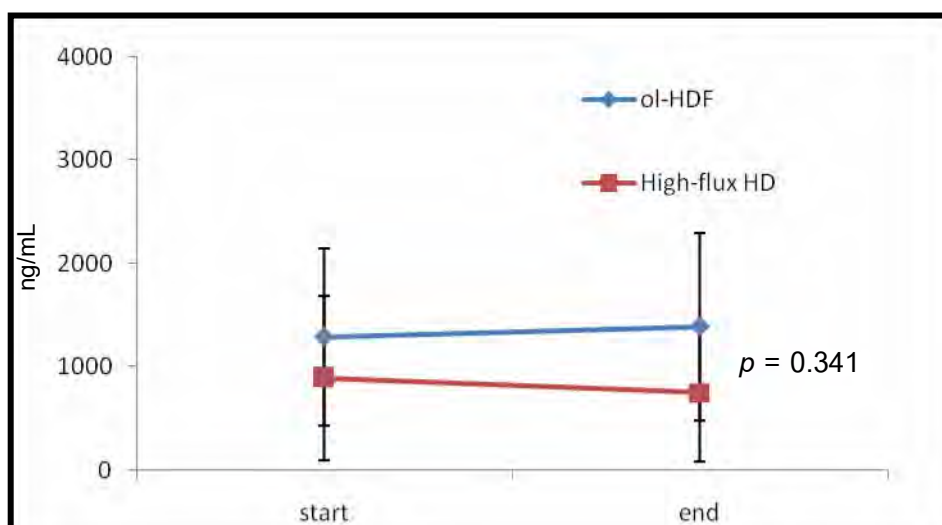
APACHE II, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation version II; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment; NS, Non-significant statistic

4.2 ผลการศึกษา

4.2.1 การขจัดสารไซโตไคน์ interleukin (IL)-18

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของระดับสารไซโตไคน์ IL-18 ที่ขณะเริ่มต้นก่อน (baseline) และหลัง (end) การฟอกเลือด 1,287.5±852.6 และ 1,389.6±904.9 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับสารไซโตไคน์ IL-18 ที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 890.9±729.2 และ 749.3±662.2 พิโคกรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการลดลงของสารไซโตไคน์ (percentage of cytokine reduction) IL-18 ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis เป็น -8.1±0.5 และ 1.9±0.5 ตามลำดับ (แสดงผลเป็น geometric mean) ($p = 0.341$) **ตารางที่ 4.2** และ **แผนภูมิกราฟที่ 4.1**

เมื่อนำค่าระดับของสารที่ถูกขจัดจากการฟอกเลือดทั้งสองวิธีมาคำนวณหาอัตราการขจัดของสาร (clearance) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งการอัตราการขจัดในกระแสเลือด (plasma clearance) และในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (dialysate clearance) **ตารางที่ 4.3**



แผนภูมิกราฟที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของระดับสารไซโตไคน์ interleukin-18 ตามระยะเวลาการฟอกเลือด

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงและร้อยละของการลดลงของระดับสารไซโตไคน์ IL-18, VEGF, CRP, ยูเรีย และฟอสเฟตตามระยะเวลาการฟอกเลือด

Variable	Values at Baseline		p-value	Values at End		p-value	Relative Change (%)		p-value
	On-line HDF	High-flux HD		On-line HDF	High-flux HD		On-line HDF	High-flux HD	
IL-18* (pg/mL)	1,287.5±852.6	890.9±729.2	0.336	1,389.6±904.9	749.3±662.2	0.115	-8.1±0.5	1.9±0.5	0.341
VEGF* (pg/mL)	774.2±389.1	502.4±439.3	0.854	405.9±165.3	434.1±315.9	0.141	52.6±47.6	11.7±0.1	0.000
Urea (mg/dL)	83.5±22.9	86.8±24.8	0.646	29.9±20.8	33.8±13.8	0.301	65.6±16.6	60.9±12.6	0.383
CRP (mg/L)	75.9±65.6	71.2±51.5	0.854	12.5±3.3	36.6±28.3	0.001	83.6±30.2	48.6±35.7	0.000
PO ₄ (mg/dL)	5.8±1.7	5.9±1.5	0.854	3.4±1.0	4.2±0.7	0.017	40.1±11.5	26.8±12.2	0.005

* รายงานผลเป็น geometric mean

ตารางที่ 4.3 อัตราการขจัดสารไซโตไคน์ IL-18 และ VEGF ในกระแสเลือด (plasma clearance) และในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด (dialysate clearance)

Variables	Plasma clearance (mL/min)			Dialysate clearance (mL/min)		
	On-line HDF	High-flux HD	p-value	On-line HDF	High-flux HD	p-value
IL-18*	20.2±0.5	23.8±8.6	0.348	1.4±0.5	1.6±0.5	0.812
VEGF	138.3±118.2	80.4±57.1	0.022	N/A	N/A	-

* รายงานผลเป็น geometric mean

N/A = ระดับความเข้มข้นของสารมีค่าต่ำมาก ไม่สามารถวัดได้

4.2.2 การขจัดสาร vascular endothelial growth factor (VEGF)

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของระดับสาร VEGF ที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 774.2±389.1 และ 405.9±165.3 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับสาร VEGF ที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 502.4±439.3 และ 434.1±315.9 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการลดลงของสาร VEGF ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis เป็น 52.6±47.6 และ 11.7±0.1 ตามลำดับ (แสดงผลเป็น geometric mean) ($p = 0.000$) **ตารางที่ 4.2** และ **แผนภูมิกราฟที่ 4.2**

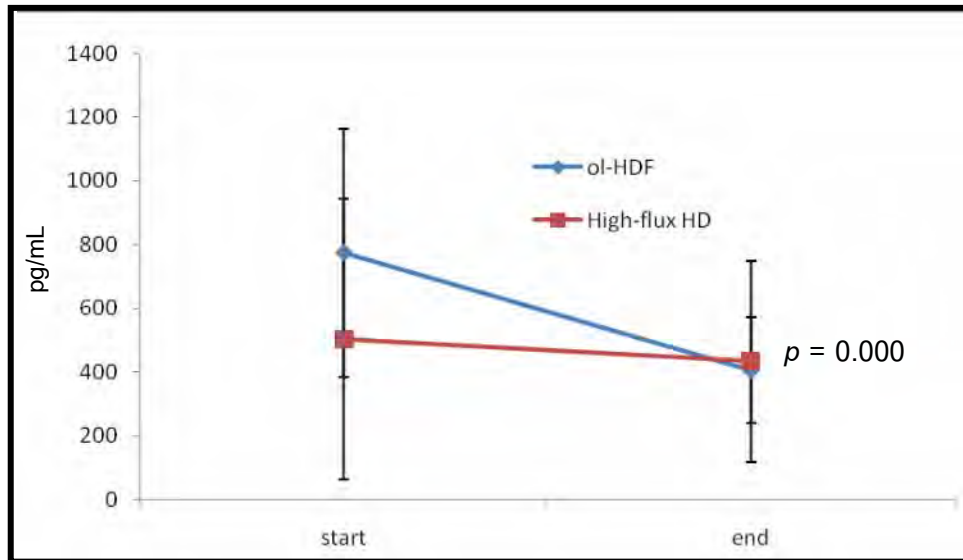
4.2 และ แผนภูมิกราฟที่ 4.2

เมื่อนำค่าระดับของสารที่ถูกขจัดจากการฟอกเลือดทั้งสองวิธีมาคำนวณหาอัตราการขจัดของสาร พบว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีอัตราการขจัดในกระแสเลือดมากกว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.022$) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาไม่สามารถวัดระดับความเข้มข้นของสาร VEGF ในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือด ทำให้ไม่สามารถคำนวณหาอัตราการขจัดของสารในน้ำที่ได้จากการฟอกเลือดได้ **ตารางที่ 4.3**

4.2.3 ระดับความดันโลหิตระหว่างการฟอกเลือด (Intradialytic blood pressure)

กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับความดันโลหิต systolic ระหว่างการฟอกเลือด 90.4±14.1 และ

74.9±20.8 มิลลิเมตรปรอท ตามลำดับ ($p = 0.095$) และค่าเฉลี่ยของระดับความดันโลหิต diastolic ระหว่างการฟอกเลือด 54.0±14.6 และ 43.0±11.9 มิลลิเมตรปรอท ตามลำดับ ($p = 0.101$)

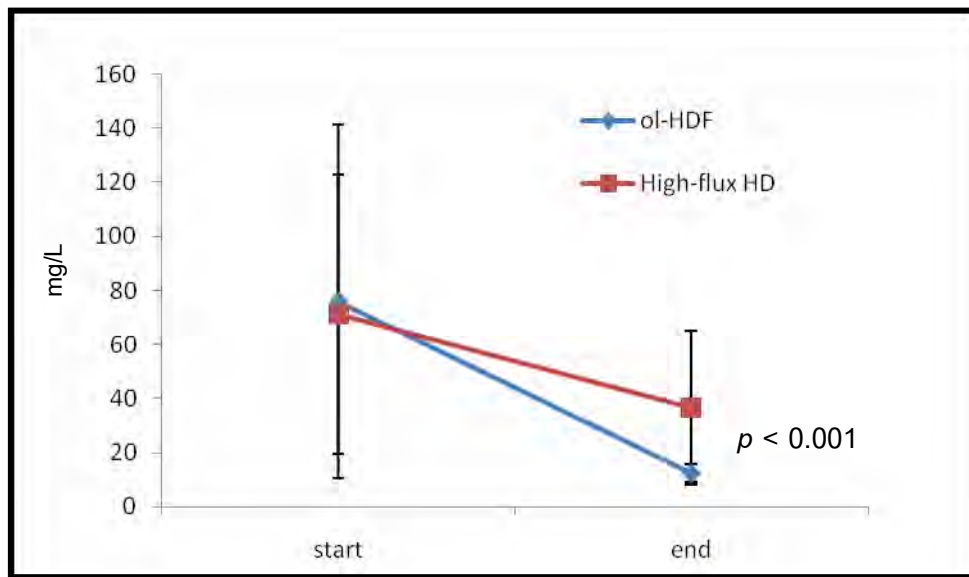


แผนภูมิกราฟที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของระดับสาร VEGF ตามระยะเวลาการฟอกเลือด

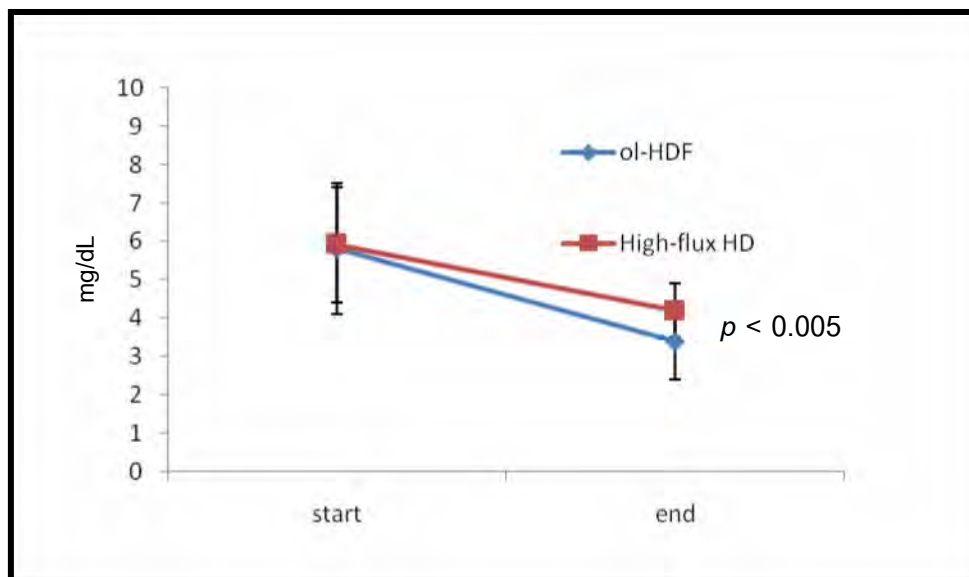
4.2.4 การจัดการไซโตคายน์ CRP, ฟอสเฟต และยูเรีย (urea)

กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของระดับสารไซโตคายน์ CRP ที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 75.9±65.6 และ 12.5±3.3 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับสารไซโตคายน์ CRP ที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 71.2±51.5 และ 36.6±28.3 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการลดลงของสารไซโตคายน์ CRP ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis เป็น 83.6±30.2 และ 48.7±35.7 ตามลำดับ ($p = 0.000$) ตารางที่ 4.2 และ แผนภูมิกราฟที่ 4.3

ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของระดับฟอสเฟตที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 5.8±1.7 และ 3.4±1.0 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับฟอสเฟตที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 5.9±1.5 และ 4.2±0.7 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการลดลงของฟอสเฟตในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis เป็น 40.1±11.5 และ 26.8±12.2 ตามลำดับ ($p = 0.005$) ตารางที่ 4.2 และ แผนภูมิกราฟที่ 4.4



แผนภูมิกราฟที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของระดับสารไซโตไคน์ C-reactive protein (CRP) ตามระยะเวลาการฟอกเลือด



แผนภูมิกราฟที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของระดับฟอสเฟตตามระยะเวลาการฟอกเลือด

กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของระดับสารยูเรียที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 83.5 ± 22.9 และ 29.9 ± 20.8 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ยของระดับสารยูเรียที่ขณะเริ่มต้นก่อนและหลังการฟอกเลือด 86.8 ± 24.8 และ 33.8 ± 13.8 มิลลิกรัม/

เดซิลิตร ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการลดลงของสารยูเรียในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis เป็น 65.6 ± 16.6 และ 60.9 ± 12.6 ตามลำดับ ($p = 0.383$) ตารางที่ 4.2

4.2.5 การฟื้นตัวของการทำงานของไต (recovery of renal function) ระยะเวลานอนโรงพยาบาล (length of stay) และอัตราการเสียชีวิต (mortality rate)

จากการติดตามการฟื้นตัวของการทำงานของไตที่ระยะเวลา 21 วัน หลังจากเข้าการศึกษา พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีจำนวนผู้ป่วยที่สามารถหยุดการฟอกเลือด 7 ราย (คิดเป็นร้อยละ 50.5) ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีจำนวนผู้ป่วยที่สามารถหยุดการฟอกเลือด 5 ราย (คิดเป็นร้อยละ 35.7)

ระยะเวลาอนโรงพยาบาลในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ย 32 ± 15.6 วัน ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ย 38 ± 11.2 วัน ($p = 0.071$)

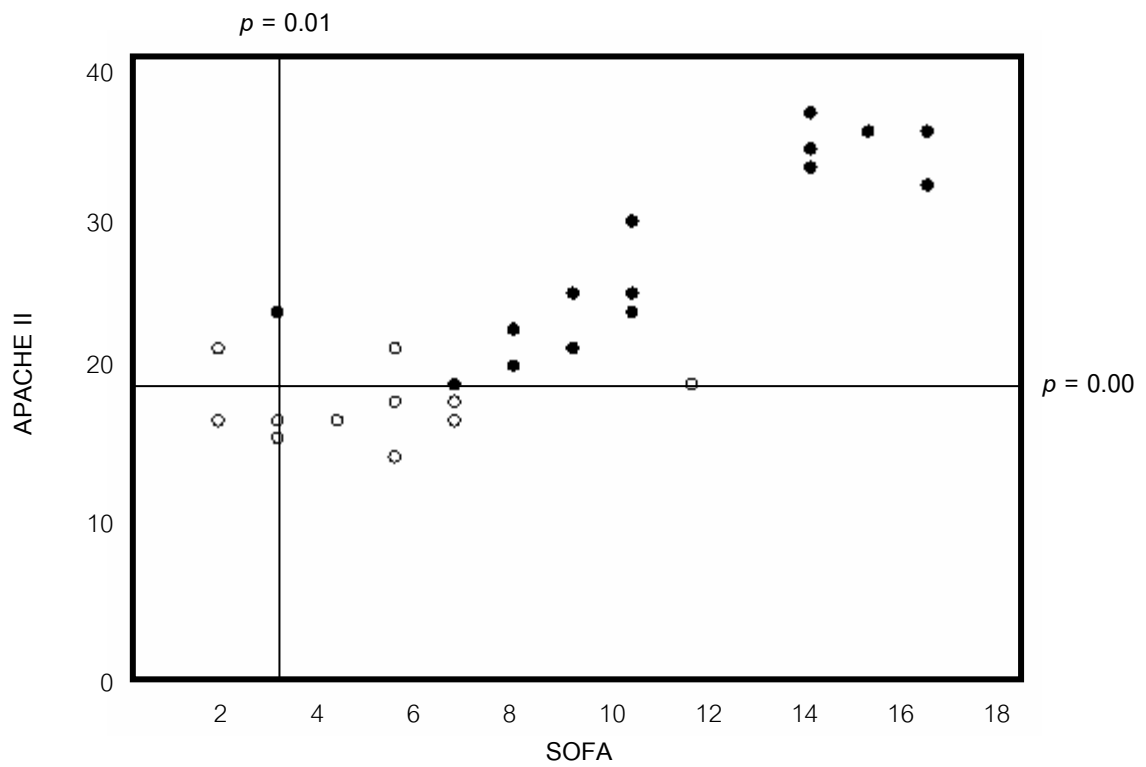
อัตราการเสียชีวิตที่ 28 วัน หลังจากเข้าการศึกษา พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration มีจำนวนผู้ป่วยเสียชีวิต 5 ราย (คิดเป็นร้อยละ 35.7) ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis มีจำนวนผู้ป่วยเสียชีวิต 3 ราย (คิดเป็นร้อยละ 21.4)

4.2.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II, SOFA และการฟื้นตัวของการทำงานของไต

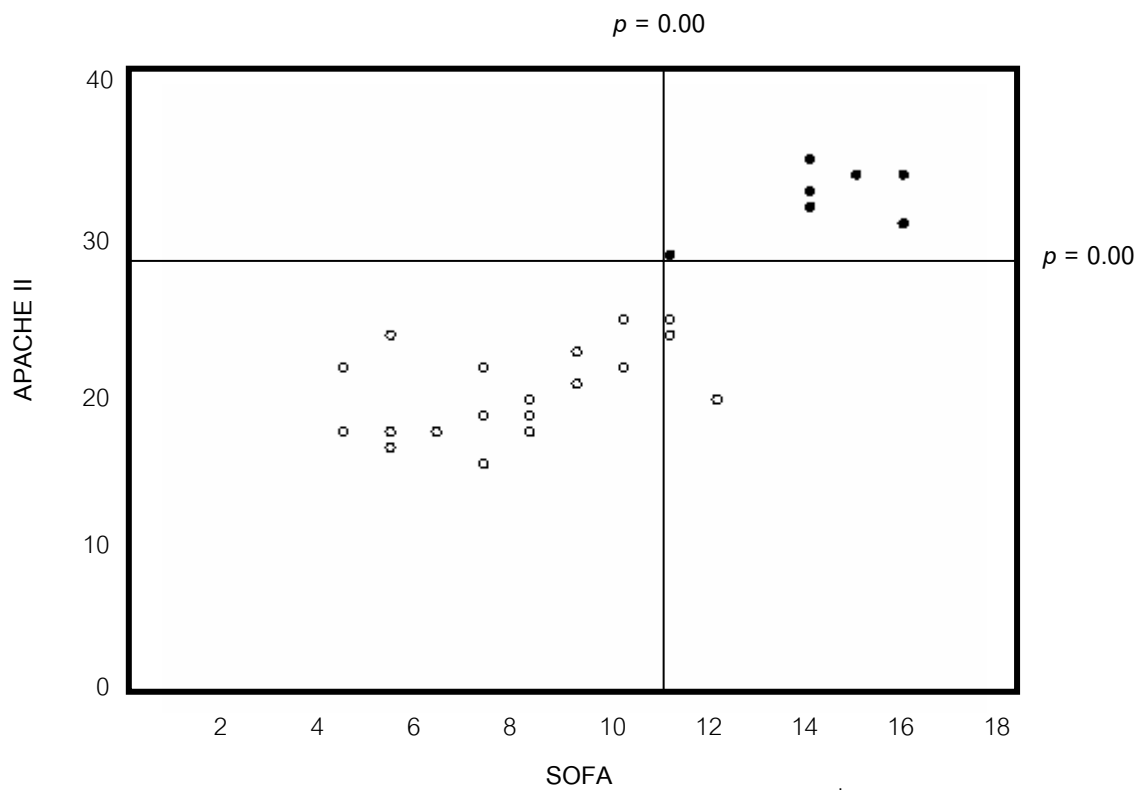
จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีต่อการฟื้นตัวของการทำงานของไตพบว่าค่า APACHE II ที่น้อยกว่า 19 และค่า SOFA ที่น้อยกว่า 3 มีความสัมพันธ์กับการฟื้นตัวของการทำงานของไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แผนภูมิกราฟที่ 4.5

4.2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II, SOFA และอัตราการเสียชีวิต

จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีต่ออัตราการเสียชีวิตพบว่าค่า APACHE II ที่มากกว่า 29 และค่า SOFA ที่มากกว่า 11 มีความสัมพันธ์กับอัตราการเสียชีวิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แผนภูมิกราฟที่ 4.6



แผนภูมิกราฟที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีผลต่อการฟื้นตัวของการทำงานของไต



แผนภูมิกราฟที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า APACHE II และ SOFA ที่มีต่ออัตราการเสียชีวิต

บทที่ 5

อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีการขจัดสารไซโตไคน์ชนิด vascular endothelial growth factor (VEGF) และ C-reactive protein (CRP) ได้ดีกว่าการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis ในขณะที่การขจัดสารไซโตไคน์ชนิด interleukin(IL)-18 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างวิธีการฟอกเลือดทั้งสองวิธี

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยนี้ถือเป็นการวิจัยแรกที่ศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติการขจัดของสารไซโตไคน์ในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายฉับพลัน จากความสนใจของผู้วิจัยที่ต้องการนำเอาวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration ซึ่งมีการใช้อยู่แล้วในเวชปฏิบัติในผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง เพื่อศึกษาถึงคุณสมบัติของการขจัดสารไซโตไคน์ ภายใต้สมมติฐานที่ว่า การฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ซึ่งมีกลไกการขจัดสารผ่านกระบวนการพา (convection) ร่วมกับกระบวนการแพร่ (diffusion) น่าจะมีการขจัดสารไซโตไคน์ที่มากกว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis ที่มีกลไกการขจัดสารผ่านกระบวนการแพร่ และกระบวนการ back filtration อย่างไรก็ตาม พบว่าการขจัดสารไซโตไคน์ IL-18 ซึ่งเป็นวัตถุประสงค์หลักของการวิจัยนั้น ไม่พบความแตกต่างระหว่างการฟอกเลือดของทั้งสองวิธี ซึ่งมีสาเหตุมาจาก

1. ภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของระบบต่างๆ ในร่างกายตลอดเวลา (dynamic condition) การตรวจวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสารไซโตไคน์ที่จุดเวลาใดเวลาหนึ่งเพียงครั้งเดียว อาจไม่ได้เป็นตัวแทนที่ดีในการศึกษาประสิทธิภาพการขจัดของสารดังกล่าวจากร่างกาย

2. การฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration เป็นวิธีการที่การให้ substitute fluid โดยตรงเข้าทดแทน ultrafiltrate ที่ออกจากตัวผู้ป่วยในปริมาณที่มากถึง 20-30 ลิตรในการรักษาแต่ละครั้ง ซึ่งอาจกระตุ้นปฏิกิริยาการอักเสบ (inflammatory process) ในร่างกายได้ง่ายโดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภาวะการอักเสบในร่างกายสูงอยู่แล้วเช่นในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด ทำให้ร่างกายมีการตอบสนองของสร้างสารไซโตไคน์ขึ้นตลอดเวลา ส่งผลให้ค่าร้อยละการลดลงของสาร

ไซโตไคน์ IL-18 ที่ชีวโม่งที่สี่เมื่อเทียบกับก่อนการฟอกเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (อัตราการกำจัดของสารน้อยกว่าอัตราการสร้างของสาร) เมื่อเทียบกับการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวเป็นเพียงสมมติฐานเท่านั้น โดยไม่พบว่ามีภาวะกระตุ้นกระบวนการอักเสบจากการใช้วิธีการฟอกเลือด on-line hemodiafiltration ในกลุ่มผู้ป่วยไตเรื้อรังที่จำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือด ในทางตรงกันข้ามการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวกลับพบว่ามี การลดลงของการอักเสบในร่างกายอย่างชัดเจนเมื่อฟอกเลือดเป็นระยะเวลา 6 เดือน นั่นคือ ควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมถึงผลของการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ที่มีต่อกระบวนการอักเสบในร่างกายของผู้ป่วยกลุ่มที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด

3. การคัดเลือกสารไซโตไคน์เพื่อเป็นตัวชี้วัดในการวิจัย (IL-18) นั้นมีขนาดโมเลกุลที่ไม่ส่งผลให้เกิดแตกต่างระหว่างการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration และ high-flux hemodialysis กล่าวคือ สารไซโตไคน์ IL-18 มีขนาดโมเลกุลที่สามารถถูกขจัดได้ดีด้วยการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบว่าสารไซโตไคน์ที่เกิดจากตอบสนองของร่างกายที่มีต่อการติดเชื้อนั้นมีมากมาย และส่วนใหญ่ล้วนมีขนาดโมเลกุลมาก ดังนั้นหากพิจารณาจากกลไกการกำจัดสารของการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ที่มีองค์ประกอบของกระบวนการพาน่าจะสามารถขจัดสารดังกล่าวได้ดีกว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี high-flux hemodialysis

สำหรับค่าร้อยละการลดลงของสารไซโตไคน์ VEGF, C-reactive protein (CRP) และฟอสเฟตนั้นสอดคล้องกับการศึกษาการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration ในกลุ่มผู้ป่วยไตเรื้อรังที่จำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือด ที่พบอัตราการลดลงของ CRP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 6 เดือน ซึ่งถือเป็นข้อมูลที่สนับสนุนว่าการใช้สารไซโตไคน์ IL-18 นั้น อาจเป็นสารที่มีขนาดโมเลกุลที่ไม่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม สำหรับข้อมูลของร้อยละการลดลงของฟอสเฟตที่พบว่ามีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า IL-18 นั้น ทางผู้วิจัยมีความเห็นว่า ฟอสเฟตมีคุณสมบัติการคงอยู่ที่พิเศษในส่วนต่างๆ ของร่างกายมีลักษณะเป็น multicompartment ทำให้ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยรูปแบบการฟอกเลือดแบบฉับพลัน (acute hemodialysis) ได้

5.3 ข้อจำกัดของงานวิจัย

ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถประยุกต์ใช้ได้เพียงกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง เนื่องจากผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายฉับพลันร่วมด้วย ที่สามารถรับการฟอกเลือดที่ห้องไตเทียม (in-center hemodialysis) ได้นั้น ส่วนหนึ่งต้องมีสภาวะทั่วไปของร่างกายและโรคที่ไม่รุนแรงมาก ซึ่งผลจากการวิจัยพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรคจากการประเมิน

ด้วย Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) และ Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) พบผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration มีค่าเฉลี่ยของ APACHE II และ SOFA เป็น 24.5 ± 7.2 และ 9.9 ± 4.9 ตามลำดับ และในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับวิธีฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis มีค่าเฉลี่ย 23.6 ± 5.1 และ 9.6 ± 2.4 ตามลำดับ

5.4 ข้อเสนอแนะ

5.4.1 การนำไปใช้ในเชิงปฏิบัติ (Implication for practice)

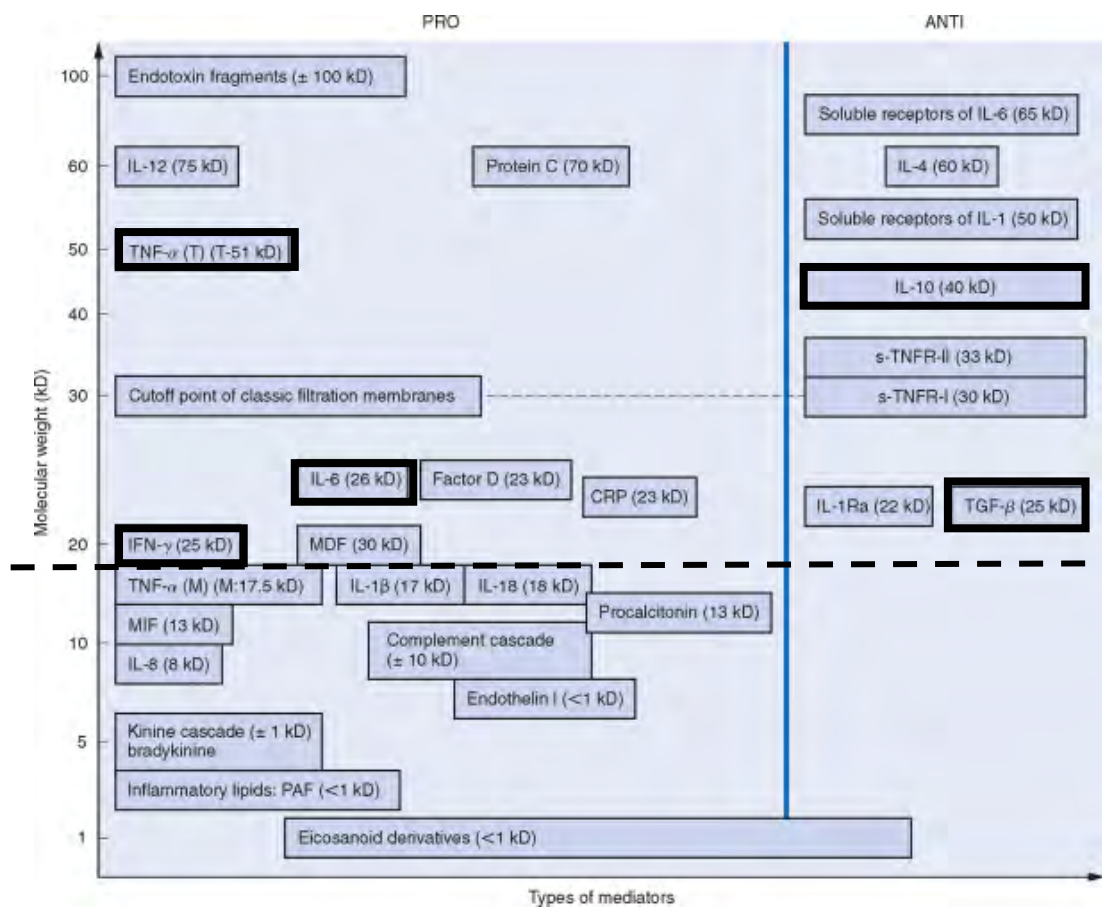
การฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration เป็นการขจัด uremic toxins ที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติของไต ซึ่งประกอบด้วยวิธีการแพรวร่วมกับการพา โดยในทางปฏิบัติ การฟอกเลือดวิธีดังกล่าวมีการใช้อย่างแพร่หลายในผู้ป่วยไตเรื้อรังที่รับการฟอกเลือดถาวรในหลายสถาบัน ดังนั้น ในสถาบันที่ใช้วิธีการฟอกเลือดแบบ convective-based hemodialysis อยู่แล้ว หากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยไตวายฉับพลัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีความจำเป็นที่จะต้องได้รับการขจัดสารของเสีย สารไซโตคายน์ในขนาดโมเลกุลขนาดกลางเช่นในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดแล้ว จะก่อเกิดประโยชน์แก่ผู้ป่วยอย่างมาก และเป็นการใช้ทรัพยากรเครื่องฟอกเลือดที่มีอยู่อย่างคุ้มค่า หากอ้างอิงผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ การใช้วิธีการฟอกเลือดด้วยวิธี pre-dilution on-line hemodiafiltration โดยให้ substitute fluid ก่อนตัวกรองถึงแม้มีข้อดีที่สามารถกำหนด ultrafiltrate ได้ตามต้องการ และไม่เกิดการอุดตันของตัวกรองง่ายจากการที่มีค่าความเข้มข้นของเลือดสูงขึ้น กลับพบว่าผลของการขจัดของเสียที่มีขนาดโมเลกุลขนาดกลางที่ไม่ใหญ่มาก เช่น IL-18 นั้นให้ผลที่มีแตกต่างจากการใช้วิธีการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis ซึ่งอาจเกิดจากการเพิ่มขึ้นของการขจัดของเสียโดยวิธีการพาจากการเพิ่มความเร็วของ ultrafiltrate ผ่านตัวกรองนั้น น้อยกว่าการลดลงของความเข้มข้นของสารของเสียจากการทำให้เจือจางของ substitute fluid ทำให้การขจัดของเสียโดยวิธีการแพรวลดลง ทางผู้วิจัยจึงแนะนำแนวทางการทำการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration โดยทำสลับกันทั้ง pre และ post-dilution on-line hemodiafiltration เพื่อหวังให้สามารถขจัดสารโมเลกุลขนาดกลาง และสารโมเลกุลขนาดเล็กได้ผลสูงสุด หรือการใช้วิธี mixed-dilution on-line hemodiafiltration ซึ่งเป็นรูปแบบที่ทางหน่วยไตเทียม สาขาวิชาโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย

5.4.2 การนำไปใช้ในเชิงงานวิจัยในอนาคต (Implication for further research)

ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ แสดงถึงแนวโน้มการขจัดของสารไซโตคายน์ที่ดีกว่าของวิธีการฟอกเลือดแบบ on-line hemodiafiltration เมื่อเทียบกับวิธีการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis

อย่างไรก็ตาม ทางผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่าควรทำการตรวจวัดการกำจัดของสารไซโตคายน์ในชนิดที่ หลากหลายและครอบคลุมทั้งไซโตคายน์กลุ่ม pro- และ anti-inflammatory เพื่อสนับสนุนข้อมูลการ วิจัยนี้ให้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น กล่าวคือ สารไซโตคายน์กลุ่ม pro-inflammatory ควรตรวจเพิ่ม ในสารที่มีขนาดโมเลกุลที่มีขนาดมากกว่า IL-18 เพื่อสนับสนุนสมมติฐานว่าการฟอกเลือดด้วยวิธี on-line hemodiafiltration จะให้ผลลัพธ์การกำจัดของสารที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ เทียบกับการฟอกเลือดแบบ high-flux hemodialysis ได้แก่ IL-6 (ขนาดโมเลกุล 26 กิโลดาลตัน), interferon (IFN)- γ (ขนาดโมเลกุล 25 กิโลดาลตัน), interferon (IFN)- α (ขนาดโมเลกุล 51 กิโลดาลตัน) และสารไซโตคายน์กลุ่ม anti-inflammatory สารที่ควรคัดเลือกมาตรวจเพิ่มได้แก่ transforming growth factor (TGF)- β (ขนาดโมเลกุล 25 กิโลดาลตัน), IL-10 (ขนาดโมเลกุล 40 กิโลดาลตัน) เป็นต้น **แผนภูมิรูปภาพที่ 5.1**

นอกจากนี้ ยังสามารถนำผลจากการวิจัยนี้ไปประยุกต์เพิ่มเติมด้วยการเปลี่ยนรูปแบบของ การฟอกเลือดเลือดจากวิธี on-line hemodiafiltration ซึ่งเป็นวิธีการฟอกเลือดแบบไม่ต่อเนื่อง (intermittent hemodialysis; IHD) เป็นวิธีการฟอกเลือดแบบต่อเนื่อง เรียกว่า on-line continuous hemodiafiltration (CHDF) ที่อาศัยหลักการกำจัดสารเหมือนกัน คือกระบวนการแพร่และ กระบวนการพา แต่มีข้อดีในแง่การเพิ่มระยะเวลาจะสามารถควบคุมสมดุลย์น้ำในร่างกายของผู้ป่วย กลุ่มที่มีความดันโลหิตไม่คงที่ได้ดีกว่า ซึ่งการฟอกเลือดด้วยวิธีดังกล่าวนี้ยังไม่มีการศึกษาถึง ประโยชน์ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้ในกระแสเลือดที่เด่นชัด มีเพียงรายงานจากสถาบันในประเทศญี่ปุ่น ในผู้ป่วย 123 ราย ระยะเวลา 5 ปี พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยร้อยละ 54 [61]



แผนภูมิรูปภาพที่ 5.1 สารไซโตคายน์ที่มีขนาดโมเลกุลมากกว่า IL-18 (เหนือเส้นประ) ที่ควรมีการทำการวิจัยเพิ่มเติม (กรอบหนา) แบ่งตามกลุ่ม pro-inflammatory และ anti-inflammatory และขนาดโมเลกุล; CRP, C-reactive protein; IL, interleukin; MDF, myodepressant factor; MIF, macrophage inhibiting factor; PAF, platelet-activating factor; sTNFR-I, sTNFR-II, tumor necrosis factor receptors I and II; TGF, transforming growth factor; TNF, tumor necrosis factor

รายการอ้างอิง

- [1.] Haase M, Bellomo R, Baldwin I, Haase-Fielitz A, Fealy N, Davenport P, et al. Hemodialysis membrane with a high-molecular-weight cutoff and cytokine levels in sepsis complicated by acute renal failure: a phase 1 randomized trial. **Am J Kidney Dis** 2007;50:296-304.
- [2.] Ronco C, Bonello M, Bordon V, Ricci Z, D'Intini V, Bellomo R, et al. Extracorporeal therapies in non-renal disease: treatment of sepsis and the peak concentration hypothesis. **Blood Purif** 2004;22:164-74.
- [3.] Shah SH, Mehta RL. Acute kidney injury in critical care: time for a paradigm shift? **Curr Opin Nephrol Hypertens** 2006;15:561-5.
- [4.] Pizzarelli F, Cerrai T, Dattolo P, Tetta C, Maggiore Q. Convective treatments with on-line production of replacement fluid: a clinical experience lasting 6 years. **Nephrol Dial Transplant** 1998;13:363-9.
- [5.] Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. **Kidney Int** 2004;66:496-9.
- [6.] Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:1503-20.
- [7.] Ratanarat R, Permpikul C. Roles of extracorporeal blood purification in sepsis. **J Med Assoc Thai** 2007;90:1021-31.
- [8.] John S, Eckardt KU. Renal replacement therapy in the treatment of acute renal failure-intermittent and continuous. **Semin Dial** 2006;19:455-64.
- [9.] Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. **Kidney Int** 2008;73:1008-16.
- [10.] Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. **J Am Coll Cardiol** 2008;52:1527-39.
- [11.] Waikar SS, Curhan GC, Wald R, McCarthy EP, Chertow GM. Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:1143-50.

- [12.] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. The changing epidemiology of acute renal failure. **Nat Clin Pract Nephrol** 2006;2:364-77.
- [13.] Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann LM, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. **J Am Soc Nephrol** 2004;15:1597-605.
- [14.] Van Biesen W, Vanholder R, Lameire N. Defining acute renal failure: RIFLE and beyond. **Clin J Am Soc Nephrol** 2006;1:1314-9.
- [15.] Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining and classifying acute renal failure: from advocacy to consensus and validation of the RIFLE criteria. **Intensive Care Med** 2007;33:409-13.
- [16.] Bagshaw SM, George C, Bellomo R. A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients. **Nephrol Dial Transplant** 2008;23:1569-74.
- [17.] Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. **N Engl J Med** 1996;334:1448-60.
- [18.] Klenzak J, Himmelfarb J. Sepsis and the kidney. **Crit Care Clin** 2005;21:211-22.
- [19.] Wan L, Bellomo R, Di Giantomasso D, Ronco C. The pathogenesis of septic acute renal failure. **Curr Opin Crit Care** 2003;9:496-502.
- [20.] Bersten AD, Rutten AJ. Renovascular interaction of epinephrine, dopamine, and intraperitoneal sepsis. **Crit Care Med** 1995;23:537-44.
- [21.] Cohen RI, Hassell AM, Marzouk K, Marini C, Liu SF, Scharf SM. Renal effects of nitric oxide in endotoxemia. **Am J Respir Crit Care Med** 2001;164:1890-5.
- [22.] Spain DA, Wilson MA, Garrison RN. Nitric oxide synthase inhibition exacerbates sepsis-induced renal hypoperfusion. **Surgery** 1994;116:322-30; discussion 30-1.
- [23.] Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. **Immunol Today** 1992;13:93-100.

- [24.] Dinarello CA, Novick D, Rubinstein M, Lonnemann G. Interleukin 18 and interleukin 18 binding protein: possible role in immunosuppression of chronic renal failure. **Blood Purif** 2003;21:258-70.
- [25.] Sakata H, Yonekawa M, Kawamura A. Blood purification therapy for sepsis. **Transfus Apher Sci** 2006;35:245-51.
- [26.] Camussi G, Ronco C, Montrucchio G, Piccoli G. Role of soluble mediators in sepsis and renal failure. **Kidney Int Suppl** 1998;66:S38-42.
- [27.] Yamamoto K, Loskutoff DJ. Fibrin deposition in tissues from endotoxin-treated mice correlates with decreases in the expression of urokinase-type but not tissue-type plasminogen activator. **J Clin Invest** 1996;97:2440-51.
- [28.] Esmon CT. Coagulation and inflammation. **J Endotoxin Res** 2003;9:192-8.
- [29.] Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. **Kidney Int** 2004;65:1357-65.
- [30.] Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. **N Engl J Med** 2001;344:699-709.
- [31.] Parsons PE, Eisner MD, Thompson BT, Matthay MA, Ancukiewicz M, Bernard GR, et al. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury. **Crit Care Med** 2005;33:1-6; discussion 230-2.
- [32.] Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, de Perrot M, Fischer S, Edwards V, et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. **JAMA** 2003;289:2104-12.
- [33.] Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. **JAMA** 2005;294:813-8.
- [34.] Bonventre JV. Dedifferentiation and proliferation of surviving epithelial cells in acute renal failure. **J Am Soc Nephrol** 2003;14 Suppl 1:S55-61.

- [35.] Ding H, Kopple JD, Cohen A, Hirschberg R. Recombinant human insulin-like growth factor-I accelerates recovery and reduces catabolism in rats with ischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 1993;91:2281-7.
- [36.] Matsumoto K, Nakamura T. Renotropic role and therapeutic potential of HGF in the kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 Suppl 9:59-61.
- [37.] Abraham E, Matthay MA, Dinarello CA, Vincent JL, Cohen J, Opal SM, et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit Care Med* 2000;28:232-5.
- [38.] Uchino S, Bellomo R, Kellum JA, Morimatsu H, Morgera S, Schetz MR, et al. Patient and kidney survival by dialysis modality in critically ill patients with acute kidney injury. *Int J Artif Organs* 2007;30:281-92.
- [39.] Mehta R. Renal replacement therapy for acute renal failure: matching the method to the patient. *Semin Dial* 1993;6:253-9.
- [40.] Ghahramani N, Shadrou S, Hollenbeak C. A systematic review of continuous renal replacement therapy and intermittent haemodialysis in management of patients with acute renal failure. *Nephrology (Carlton)* 2008;13:570-8.
- [41.] Srisawat N, Lawsin L, Uchino S, Bellomo R, Kellum JA. Cost of acute renal replacement therapy in the intensive care unit: results from The Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) study. *Crit Care* 2010;14:R46.
- [42.] Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996;24:1125-8.
- [43.] Hall MW, Muszynski JA. Immune modulation in sepsis. *J Pediatr Infect Dis* 2009;4:127-36.
- [44.] Ronco C, Tetta C, Mariano F, Wratten ML, Bonello M, Bordoni V, et al. Interpreting the mechanisms of continuous renal replacement therapy in sepsis: the peak concentration hypothesis. *Artif Organs* 2003;27:792-801.
- [45.] Bellomo R, Honore PM, Matson J, Ronco C, Winchester J. Extracorporeal blood treatment (EBT) methods in SIRS/Sepsis. *Int J Artif Organs* 2005;28:450-8.

- [46.] Honore PM, Matson JR. Extracorporeal removal for sepsis: Acting at the tissue level-
-the beginning of a new era for this treatment modality in septic shock. **Crit
Care Med** 2004;32:896-7.
- [47.] Honoré PM, Jamez J, Wittebole X. Influence of high volume haemofiltration on the
haemodynamic course and outcome of patients with refractory septic
shock: retrospective study of 15 consecutive cases. **Blood Purif**
1997;15:122-38.
- [48.] Honoré PM, Jamez J, Wauthier M, Dugernier Th. Prospective evaluation of short time
high volume isovolemic haemofiltration on the haemodynamic course and
outcome of patients with refractory septic shock. **Crit Care Nephrol**
1998;90:87-99.
- [49.] Klouche K, Cavadore P, Portales P, Clot J, Canaud B, Beraud JJ. Continuous veno-
venous hemofiltration improves hemodynamics in septic shock with acute
renal failure without modifying TNFalpha and IL6 plasma concentrations. **J
Nephrol** 2002;15:150-7.
- [50.] Di Carlo JV, Alexander SR. Hemofiltration for cytokine-driven illnesses: the mediator
delivery hypothesis. **Int J Artif Organs** 2005;28:777-86.
- [51.] Olszewski WL. The lymphatic system in body homeostasis: physiological conditions.
Lymphat Res Biol 2003;1:11-21; discussion -4.
- [52.] Venkataraman R, Subramanian S, Kellum JA. Clinical review: extracorporeal blood
purification in severe sepsis. **Crit Care** 2003;7:139-45.
- [53.] De Vriese AS, Vanholder RC, Pascual M, Lameire NH, Colardyn FA. Can
inflammatory cytokines be removed efficiently by continuous renal
replacement therapies? **Intensive Care Med** 1999;25:903-10.
- [54.] Matson J, Zydney A, Honore PM. Blood filtration: new opportunities and the
implications of systems biology. **Crit Care Resusc** 2004;6:209-17.
- [55.] Canaud B, Levesque R, Krieter D, Desmeules S, Chalabi L, Moragues H, et al. On-
line hemodiafiltration as routine treatment of end-stage renal failure: why
pre- or mixed dilution mode is necessary in on-line hemodiafiltration today?
Blood Purif 2004;22 Suppl 2:40-8.

- [56.] Carracedo J, Merino A, Nogueras S, Carretero D, Berdud I, Ramirez R, et al. On-line hemodiafiltration reduces the proinflammatory CD14+CD16+ monocyte-derived dendritic cells: A prospective, crossover study. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:2315-21.
- [57.] Panichi V, Tetta C. The biological response to online hemodiafiltration. In: Ronco C, Canaud B, Alijama P, editors. **Hemodiafiltration**. First edition. Basel: Karger, 2007:194-200.
- [58.] Morgera S, Rocktaschel J, Haase M, Lehmann C, von Heymann C, Ziemer S, et al. Intermittent high permeability hemofiltration in septic patients with acute renal failure. **Intensive Care Med** 2003;29:1989-95.
- [59.] Kuo HL, Chou CY, Liu YL, Yang YF, Huang CC, Lin HH. Reduction of pro-inflammatory cytokines through hemodiafiltration. **Ren Fail** 2008;30:796-800.
- [60.] Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Engl J Med** 2000;342:836-43.
- [61.] Kawanishi H. On-line hemodiafiltration in critical care. **Ther Apher** 2002;6:199-203.
- [62.] Canaud B, Morena M, Leray-Moragues H, Chalabi L, Cristol JP. Overview of clinical studies in hemodiafiltration: what do we need now ? **Hemodial Int** 2006;10 Suppl 1:S5-S12.
- [63.] Ward RA, Schmidt B, Hullin J, Hillebrand GF, Samtleben W. A comparison of on-line hemodiafiltration and high-flux hemodialysis: a prospective clinical study. **J Am Soc Nephrol** 2000;11:2344-50.
- [64.] Schiff H. Prospective randomized cross-over long-term comparison of online haemodiafiltration and ultrapure high-flux haemodialysis. **Eur J Med Res** 2007;12:26-33.
- [65.] Devarajan P. Proteomics for biomarker discovery in acute kidney injury. **Semin Nephrol** 2007;27:637-51.
- [66.] Christians U, McCrery S, Klawitter J. The role of proteomics in the study of kidney diseases and in the development of diagnostic tools. In: Edelstein CL,

- editor. **Biomarkers in kidney disease**. First edition. London: Elsevier, 2011:101-76.
- [67.] Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clin Pharmacol Ther** 2001;69:89-95.
- [68.] Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. **J Am Soc Nephrol** 2003;14:2534-43.
- [69.] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. **Lancet** 2005;365:1231-8.
- [70.] Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. **J Am Soc Nephrol** 2005;16:3046-52.
- [71.] Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. **Am J Kidney Dis** 2004;43:405-14.
- [72.] Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. **Kidney Int** 2004;66:1115-22.
- [73.] Liangos O, Han WK, Wald R. Urinary kidney injury molecule-1 level is an early and sensitive marker of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:403A.
- [74.] Faggioni R, Jones-Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C, et al. Leptin-deficient (ob/ob) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor alpha and IL-18. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2000;97:2367-72.
- [75.] Faggioni R, Cattley RC, Guo J, Flores S, Brown H, Qi M, et al. IL-18-binding protein protects against lipopolysaccharide-induced lethality and prevents the development of Fas/Fas ligand-mediated models of liver disease in mice. **J Immunol** 2001;167:5913-20.

- [76.] Fiorucci S, Santucci L, Antonelli E, Distrutti E, Del Sero G, Morelli O, et al. NO-aspirin protects from T cell-mediated liver injury by inhibiting caspase-dependent processing of Th1-like cytokines. **Gastroenterology** 2000;118:404-21.
- [77.] Plater-Zyberk C, Joosten LA, Helsen MM, Sattoune-Roche P, Siegfried C, Alouani S, et al. Therapeutic effect of neutralizing endogenous IL-18 activity in the collagen-induced model of arthritis. **J Clin Invest** 2001;108:1825-32.
- [78.] Dinarello CA. Novel targets for interleukin 18 binding protein. **Ann Rheum Dis** 2001;60 Suppl 3:iii18-24.
- [79.] Dinarello CA. Interleukin-18 and the treatment of rheumatoid arthritis. **Rheum Dis Clin North Am** 2004;30:417-34, ix.
- [80.] Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. **Blood** 1996;87:2095-147.
- [81.] Melnikov VY, Ecker T, Fantuzzi G, Siegmund B, Lucia MS, Dinarello CA, et al. Impaired IL-18 processing protects caspase-1-deficient mice from ischemic acute renal failure. **J Clin Invest** 2001;107:1145-52.
- [82.] Haq M, Norman J, Saba SR, Ramirez G, Rabb H. Role of IL-1 in renal ischemic reperfusion injury. **J Am Soc Nephrol** 1998;9:614-9.
- [83.] Melnikov VY, Faubel S, Siegmund B, Lucia MS, Ljubanovic D, Edelstein CL. Neutrophil-independent mechanisms of caspase-1- and IL-18-mediated ischemic acute tubular necrosis in mice. **J Clin Invest** 2002;110:1083-91.
- [84.] He Z, Lu L, Altmann C, Hoke TS, Ljubanovic D, Jani A, et al. Interleukin-18 binding protein transgenic mice are protected against ischemic acute kidney injury. **Am J Physiol Renal Physiol** 2008;295:F1414-21.
- [85.] Wu H, Craft ML, Wang P, Wyburn KR, Chen G, Ma J, et al. IL-18 contributes to renal damage after ischemia-reperfusion. **J Am Soc Nephrol** 2008;19:2331-41.
- [86.] Oberholzer A, Harter L, Feilner A, Steckholzer U, Trentz O, Ertel W. Differential effect of caspase inhibition on proinflammatory cytokine release in septic patients. **Shock** 2000;14:253-7; discussion 7-8.
- [87.] Oberholzer A, Feilner A, Hentze H, Steckholzer U, Kurimoto M, Trentz O, et al. Sepsis after severe injury interrupts caspase-dependent processing of interleukin-18. **J Trauma** 2000;49:11-6; discussion 6-7.

- [88.] Endo S, Inada K, Yamada Y, Wakabayashi G, Ishikura H, Tanaka T, et al. Interleukin 18 (IL-18) levels in patients with sepsis. **J Med** 2000;31:15-20.
- [89.] Grobmyer SR, Lin E, Lowry SF, Rivadeneira DE, Potter S, Barie PS, et al. Elevation of IL-18 in human sepsis. **J Clin Immunol** 2000;20:212-5.
- [90.] Lauw FN, Simpson AJ, Prins JM, Smith MD, Kurimoto M, van Deventer SJ, et al. Elevated plasma concentrations of interferon (IFN)-gamma and the IFN-gamma-inducing cytokines interleukin (IL)-18, IL-12, and IL-15 in severe melioidosis. **J Infect Dis** 1999;180:1878-85.
- [91.] Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. **Science** 1983;219:983-5.
- [92.] Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. **Science** 1989;246:1306-9.
- [93.] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. **Nat Med** 2003;9:669-76.
- [94.] Yano K, Liaw PC, Mullington JM, Shih SC, Okada H, Bodyak N, et al. Vascular endothelial growth factor is an important determinant of sepsis morbidity and mortality. **J Exp Med** 2006;203:1447-58.
- [95.] Ostendorf T, Kunter U, Eitner F, Loos A, Regele H, Kerjaschki D, et al. VEGF(165) mediates glomerular endothelial repair. **J Clin Invest** 1999;104:913-23.
- [96.] El Awad B, Kreft B, Wolber EM, Hellwig-Burgel T, Metzen E, Fandrey J, et al. Hypoxia and interleukin-1beta stimulate vascular endothelial growth factor production in human proximal tubular cells. **Kidney Int** 2000;58:43-50.
- [97.] Kanellis J, Mudge SJ, Fraser S, Katerelos M, Power DA. Redistribution of cytoplasmic VEGF to the basolateral aspect of renal tubular cells in ischemia-reperfusion injury. **Kidney Int** 2000;57:2445-56.
- [98.] Kitamoto Y, Matsuo K, Tomita K. Different response of urinary excretion of VEGF in patients with chronic and acute renal failure. **Kidney Int** 2001;59:385-6.
- [99.] Sooy K, Kohut J, Christakos S. The role of calbindin and 1,25dihydroxyvitamin D3 in the kidney. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 2000;9:341-7.

- [100.] Betton GR, Kenne K, Somers R, Marr A. Protein biomarkers of nephrotoxicity; a review and findings with cyclosporin A, a signal transduction kinase inhibitor and N-phenylanthranilic acid. **Cancer Biomark** 2005;1:59-67.
- [101.] Girton RA, Sundin DP, Rosenberg ME. Clusterin protects renal tubular epithelial cells from gentamicin-mediated cytotoxicity. **Am J Physiol Renal Physiol** 2002;282:F703-9.
- [102.] Trougakos IP, Gonos ES. Regulation of clusterin/apolipoprotein J, a functional homologue to the small heat shock proteins, by oxidative stress in ageing and age-related diseases. **Free Radic Res** 2006;40:1324-34.
- [103.] Conti M, Moutereau S, Zater M, Lallali K, Durrbach A, Manivet P, et al. Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. **Clin Chem Lab Med** 2006;44:288-91.
- [104.] Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB, et al. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. **N Engl J Med** 2005;352:2049-60.
- [105.] Muramatsu Y, Tsujie M, Kohda Y, Pham B, Perantoni AO, Zhao H, et al. Early detection of cysteine rich protein 61 (CYR61, CCN1) in urine following renal ischemic reperfusion injury. **Kidney Int** 2002;62:1601-10.
- [106.] Yang GP, Lau LF. Cyr61, product of a growth factor-inducible immediate early gene, is associated with the extracellular matrix and the cell surface. **Cell Growth Differ** 1991;2:351-7.
- [107.] Di Paolo S, Gesualdo L, Stallone G, Ranieri E, Schena FP. Renal expression and urinary concentration of EGF and IL-6 in acutely dysfunctioning kidney transplanted patients. **Nephrol Dial Transplant** 1997;12:2687-93.
- [108.] Stangou M, Alexopoulos E, Papagianni A, Pantzaki A, Bantis C, Dovas S, et al. Urinary levels of epidermal growth factor, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 may act as predictor markers of renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy. **Nephrology (Carlton)** 2009;14:613-20.

- [109.] Prozialeck WC, Edwards JR, Lamar PC, Liu J, Vaidya VS, Bonventre JV. Expression of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in relation to necrosis and apoptosis during the early stages of Cd-induced proximal tubule injury. **Toxicol Appl Pharmacol** 2009;238:306-14.
- [110.] Prozialeck WC, Edwards JR, Vaidya VS, Bonventre JV. Preclinical evaluation of novel urinary biomarkers of cadmium nephrotoxicity. **Toxicol Appl Pharmacol** 2009;238:301-5.
- [111.] Eijkenboom JJ, van Eijk LT, Pickkers P, Peters WH, Wetzels JF, van der Hoeven HG. Small increases in the urinary excretion of glutathione S-transferase A1 and P1 after cardiac surgery are not associated with clinically relevant renal injury. **Intensive Care Med** 2005;31:664-7.
- [112.] Devarajan P. Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury. **Expert Opin Med Diagn** 2008;2:387-98.
- [113.] Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. **Am J Transplant** 2006;6:1639-45.
- [114.] Washburn KK, Zappitelli M, Arikan AA, Loftis L, Yalavarthy R, Parikh CR, et al. Urinary interleukin-18 is an acute kidney injury biomarker in critically ill children. **Nephrol Dial Transplant** 2008;23:566-72.
- [115.] Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney Int** 2002;62:237-44.
- [116.] Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. **J Clin Invest** 2008;118:1657-68.
- [117.] Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. **Am J Physiol Renal Physiol** 2006;290:F517-29.


- [118.] Russo LM, Sandoval RM, Brown D, Molitoris BA, Comper WD. Controversies in nephrology: response to 'renal albumin handling, facts, and artifacts'. **Kidney Int** 2007;72:1195-7.
- [119.] Russo LM, Sandoval RM, Campos SB, Molitoris BA, Comper WD, Brown D. Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol** 2009;20:489-94.
- [120.] Russo LM, Sandoval RM, McKee M, Osicka TM, Collins AB, Brown D, et al. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: retrieval is disrupted in nephrotic states. **Kidney Int** 2007;71:504-13.
- [121.] Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH, Bonventre JV. Non-invasive renal diagnostic studies. **Clin Lab Med** 1988;8:507-26.
- [122.] Davey PG, Cowley DM, Geddes AM, Terry J. Clinical evaluation of beta 2-microglobulin, muramidase, and alanine aminopeptidase as markers of gentamicin nephrotoxicity. **Contrib Nephrol** 1984;42:100-6.
- [123.] Miyata T, Jadoul M, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C. Beta-2 microglobulin in renal disease. **J Am Soc Nephrol** 1998;9:1723-35.
- [124.] Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Napodano P, Paparella M, et al. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. **Nephrol Dial Transplant** 2002;17:1890-6.
- [125.] Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. **J Am Soc Nephrol** 2007;18:904-12.
- [126.] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. **Am J Kidney Dis** 2009;54:1012-24.

- [127.] Debata PR, Panda H, Supakar PC. Altered expression of trefoil factor 3 and cathepsin L gene in rat kidney during aging. **Biogerontology** 2007;8:25-30.
- [128.] Mashimo H, Podolsky DK, Fishman MC. Structure and expression of murine intestinal trefoil factor: high evolutionary conservation and postnatal expression. **Biochem Biophys Res Commun** 1995;210:31-7.
- [129.] Mashimo H, Wu DC, Podolsky DK, Fishman MC. Impaired defense of intestinal mucosa in mice lacking intestinal trefoil factor. **Science** 1996;274:262-5.
- [130.] Chan LW, Moses MA, Goley E, Sproull M, Muanza T, Coleman CN, et al. Urinary VEGF and MMP levels as predictive markers of 1-year progression-free survival in cancer patients treated with radiation therapy: a longitudinal study of protein kinetics throughout tumor progression and therapy. **J Clin Oncol** 2004;22:499-506.
- [131.] Gunsilius E, Petzer A, Stockhammer G, Nussbaumer W, Schumacher P, Clausen J, et al. Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood. **Oncology** 2000;58:169-74.
- [132.] Kitamoto Y, Tokunaga H, Miyamoto K, Tomita K. VEGF is an essential molecule for glomerular endothelial cells and its excretion in urine might be a unique marker of glomerular injury. **Rinsho Byori** 2000;48:485-90.
- [133.] Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. **FASEB J** 1999;13:9-22.
- [134.] Peng W, Chen J, Jiang Y, Shou Z, Chen Y, Wang H. Acute renal allograft rejection is associated with increased levels of vascular endothelial growth factor in the urine. **Nephrology (Carlton)** 2008;13:73-9.
- [135.] European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use. Final conclusions on the pilot joint EMEA/FDA VXDS experience on qualification of nephrotoxicity biomarkers. January 2009.
<http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/sciadvise/67971908en.pdf>
(accessed October 10, 2010).

- [136.] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM ESICM ACCP ATS SIS International Sepsis Definitions Conference. **Crit Care Med** 2003;31:1250-6.
- [137.] Canaud B. Online hemodiafiltration. In: Ronco C, Canaud B, Aljama P, editors. **Hemodiafiltration**. First edition. Basel: Karger, 2007:110-22.
- [138.] Hemodialysis Adequacy Work Group. NFK-DOQI clinical practice guidelines for hemodialysis. **Am J Kidney Dis** 1997;30(suppl2):S15-66.
- [139.] Himmelfarb J, Chuang P, Sculman G. Hemodialysis. In: Brenner BM, editor. **Brenner and Rector's The Kidney**. Eighth edition. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008:1957-2006.
- [140.] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. **Crit Care Med** 1985;13:818-29.
- [141.] Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. **Crit Care Med** 1998;26:1793-800.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

 <p style="text-align: center;">คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p style="text-align: center;">เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
--	--

ชื่อโครงการวิจัย เปรียบเทียบการจัดสารไซโตไคน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ สีโอโมไดอะฟิลเตรชันและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ นายแพทย์ วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ

ที่อยู่ สาขาวิชาโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4251 ต่อ 101, 102 หรือ 081-927-8256


เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิตร่วมกับภาวะไตวายเฉียบพลันที่มีความจำเป็นต้องได้รับการฟอกเลือด ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

ภาวะไตวายเฉียบพลันและการติดเชื้อในกระแสโลหิตเป็นภาวะที่พบร่วมกันได้บ่อย เชื่อว่าสารไซโตไคน์ (cytokines) เช่น อินเตอร์ลิวคิน-18 (interleukin-18) ซึ่งร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อ เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญที่ทำให้การดำเนินโรคแย่ลง การฟอกเลือดโดยวิธีฮีโมไดอะไลซิสธรรมดา (conventional hemodialysis) ไม่สามารถจัดสารดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องใช้วิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะฟิลเตรชัน หรือวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบการจัดสารไซโตไคน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดทั้งสองวิธีนี้

	<p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
---	--	--

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อเปรียบเทียบการขจัดสารอินทรีย์ถาวร-18 ในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิตร่วมกับภาวะไตวายเฉียบพลัน ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิสและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูง จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 28 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย


หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจเลือดประเมินภาวะติดเชื้อ ความเข้มข้นของเลือด การทำงานของไต ระดับเกลือแร่ในร่างกาย และอัลบูมิน ก่อนทำการฟอกเลือดโดยวิธีฮีโมไดอะลิซิสธรรมดาในครั้งแรกปริมาณ 8 มิลลิลิตร หลังจากนั้นท่านจะถูกแบ่งกลุ่มด้วยวิธีการสุ่มเลือกเพื่อเข้ารับการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิส หรือวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงตามข้อบ่งชี้ในการฟอกเลือด โดยระหว่างการฟอกเลือดของทั้งสองวิธีผู้วิจัยจะทำการตรวจเลือดโดยดูดจากสายฟอกเลือดที่เวลาก่อนการฟอกเลือดปริมาณ 30 มิลลิลิตร ที่เวลา 5 นาทีปริมาณ 20 มิลลิลิตร ที่เวลา 10 นาทีปริมาณ 8 มิลลิลิตร ที่เวลาสิ้นสุดการฟอกเลือดปริมาณ 28 มิลลิลิตร และที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการฟอกเลือดปริมาณ 20 มิลลิลิตร สำหรับน้ำยาที่ผ่านการฟอกเลือดจะทำการเก็บที่นาที่ที่ 10 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร รวมปริมาตรเลือดที่ใช้ตรวจ 114 มิลลิลิตร (23 ซ่อนชา) และปริมาตรน้ำยาที่ผ่านการฟอกเลือด 30 มิลลิลิตร (6 ซ่อนชา) เพื่อนำไปศึกษา ทั้งนี้ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการศึกษาจะถูกทำลาย

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

เนื่องจากการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิส และวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงนั้นมีการให้สารน้ำทดแทนระหว่างการฟอกค่อนข้างมาก จึงมีโอกาสได้รับสารปนเปื้อนได้มากกว่าการฟอกแบบเดิม แต่เนื่องจากทางหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มีมาตรฐานระบบน้ำสูง และมีการเฝ้าระวังที่ได้มาตรฐานจึงมีการปนเปื้อนน้อยมาก

	<p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
---	--	--

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้อาจจะทำให้ท่านมีสุขภาพที่ดีขึ้น หรืออาจจะลดความรุนแรงของโรคได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร


ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษานักวิชาการรักษาวิธีอื่น ๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย ขอให้ท่านปฏิบัติตามดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้งที่น่าจะหมายให้มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และทางผู้วิจัยจะให้การดูแลรักษาผู้เข้าร่วมวิจัยอย่างใกล้ชิด รวมทั้งจะรับผิดชอบค่าใช้จ่าย ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใดๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับ

	<p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
---	--	--

ผู้ทำวิจัยคือ นายแพทย์วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ ได้ตลอด 24 ชั่วโมงทางเบอร์โทรศัพท์ 02-256-4251 ต่อ 101, 102 หรือ 081-927-8256

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าใช้จ่ายในการฟอกเลือดด้วยวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ฮีโมไดอะลิซิส และค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด


ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากกรเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่ท่านนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัย

	<p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
---	--	--


สามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้
สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

- ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้
1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
 2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
 3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
 4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
 5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
 6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
 7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
 8. ท่านจะได้รับทราบว่ากรยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการ โดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
 9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
 10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชัดเจนต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจาก การวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ภาคผนวก ข

 <p style="text-align: center;">คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
--	--

การวิจัยเรื่อง เปรียบเทียบการขจัดสารไซโตคายน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์
 ฮีโมไดอะลิซิสและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มี
 ภาวะไตวายฉับพลัน

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....ได้อ่าน


รายละเอียดจากเอกสาร ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วม โครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับ
 วันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ
 วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำ
 การวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย
 วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะ
 เกิดขึ้นจากการวิจัยและแนวทางการรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอใน
 การซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่างๆ ด้วยความเต็มใจไม่
 ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับ
 การรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล
 และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่นๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับ
 ต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อ
 ได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการ
 พิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามา
 ตรวจสอบและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบ

	<p style="text-align: center;">คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p style="text-align: center;">เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย</p>
---	--	---

ความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้า และสามารถยกเลิกการใช้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในระบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย


(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

	<p style="text-align: center;">คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p style="text-align: center;">เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย (สำหรับ ผู้แทนโดยชอบธรรม)</p>
---	--	---

การวิจัยเรื่อง เปรียบเทียบการจัดการขจัดสารไซโตคายน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์
 ซีโมไดอะฟิลเตรชันและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มี
 ภาวะไตวายเฉียบพลัน

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....


ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....(ชื่อ-นามสกุล
 ผู้แทน โดยชอบธรรม) ซึ่งมีความสัมพันธ์เป็น.....ของผู้เข้าร่วมวิจัย
 ที่อยู่..... ได้อ่านรายละเอียดจาก
 เอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้า
 ยินยอมให้ นาย/ นาง/ นางสาว..... เข้าร่วม
 โครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมใน โครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ
 วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วม โครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำ
 การวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย
 วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะ
 เกิดขึ้นจากการวิจัยและแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและ โอกาสเพียงพอใน
 การซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่างๆ ด้วยความเต็มใจไม่
 ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับ
 การรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมใน โครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล
 และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่นๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับ
 ต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อ
 ได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการ
 พิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามา
 ตรวจสอบและประมวลผลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบ

	<p style="text-align: center;">คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p style="text-align: center;">เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย (สำหรับ ผู้แทนโดยชอบธรรม)</p>
---	---	--

ความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้า และสามารถยกเลิกการใช้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้แทน โดยชอบธรรม

(.....) ชื่อผู้แทน โดยชอบธรรม ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ค

CRF (Data Sheet)

ชื่อโครงการวิจัย เปรียบเทียบการขจัดสารไซโตคายน์ระหว่างวิธีการฟอกเลือดแบบออนไลน์ อีโมโดอะฟิลเตรชันและวิธีการฟอกเลือดแบบประสิทธิภาพสูงในผู้ป่วยติดเชื้อในกระแสโลหิตที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน

ลำดับที่ผู้เข้าร่วมการศึกษา # _____ อายุ _____ ปี _____ เดือน เพศ _____ วันที่นอนโรงพยาบาล _____

น้ำหนักตัว _____ กิโลกรัม ส่วนสูง _____ เซนติเมตร

ผลเลือดแรกรับ Hct _____ %, Hb _____ กรัม/เดซิลิตร

WBC _____ $\times 10^3/\mu\text{L}$ (N _____ L _____ M _____ E _____ %) Platelet _____ $\times 10^3/\mu\text{L}$

BUN _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร, Cr _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร, Albumin _____ g%

Na _____ K _____ Cl _____ HCO_3 _____ mEq/ ลิตร,

Ca _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร, PO_4 _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร

วินิจฉัยภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันร่วมด้วย

- วันที่ _____

- วินิจฉัยภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

1. มีภาวะดังต่อไปนี้ 2 ข้อ จากจำนวนทั้งหมด 4 ข้อ

BT $>38.5^\circ\text{C}$ or $<35.0^\circ\text{C}$ HR >90 ครั้ง/ นาที

RR >20 ครั้ง/ นาที หรือ $\text{PaCO}_2 <32$ มิลลิเมตรปรอท

WBC $>12,000/\mu\text{L}$, $<4,000$ cells/ μL , หรือ >10 % band forms

2. มีหลักฐานการเกิดภาวะติดเชื้อ จากตำแหน่งรอยโรค/ อวัยวะ _____

- วินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลัน (ระยะ F ของ RIFLE): มีภาวะดังต่อไปนี้ตั้งแต่ 1 ข้อขึ้นไป

มีการเพิ่มขึ้นของ Cr > 300 % จากค่าพื้นฐาน หรือมีระดับค่า Cr ตั้งแต่

4.0 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หรือมีการเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 0.5 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

มีปัสสาวะ < 0.3 มิลลิลิตร/ กิโลกรัม/ 24 ชั่วโมง หรือมีภาวะ anuria นาน 12 ชั่วโมง

ข้อบ่งชี้ในการฟอกเลือด _____

การฟอกเลือดครั้งแรกด้วยวิธี conventional low-flux hemodialysis (run-in period)

วันที่_____ ลำดับที่ผู้เข้าร่วมการศึกษา #_____

การเก็บเลือดตัวอย่าง

HD ทำ

Pre เลือดก่อน start HD ส่ง BUN, Cr, albumin, electrolyte, CBC

Post เลือดหลัง HD โดยวิธี slow flow stop pump ส่ง BUN, Cr, albumin

Predialysis น้ำหนักตัวผู้ป่วยก่อนฟอก_____ กิโลกรัม

BT____°C BP_____ HR_____ RR_____

BUN_____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร Cr_____ มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร Albumin_____g%

Na___K___Cl___HCO₃___mEq/ลิตร

Hct____%, Hb_____กรัม/เดซิลิตร

WBC_____x10³/μL(N____L____M____E____%) Platelet_____x10³/μL

Dialysis data: (แบบสำเนา Dialysis Sheet ด้วย)

ระยะเวลา_____ชั่วโมง Net UF_____มิลลิลิตร

BFR_____มิลลิลิตร/นาที DFR_____มิลลิลิตร/นาที

Complication_____

Postdialysis น้ำหนักตัวผู้ป่วยหลังฟอก_____ กิโลกรัม

BT____°C BP_____ HR_____ RR_____

BUN_____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร Cr_____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร Albumin_____g%

Na___K___Cl___HCO₃___mEq/ลิตร

Hct____%, Hb_____กรัม/เดซิลิตร

WBC_____x10³/μL(N____L____M____E____%) Platelet_____x10³/μL

การฟอกเลือดครั้งที่สอง

On-line hemodiafiltration High-flux hemodialysis

วันที่ _____ ลำดับที่ผู้เข้าร่วมการศึกษา # _____

การเก็บเลือดตัวอย่าง

HD	ทำ
<i>Pre</i>	<input type="checkbox"/> เลือด clot blood 20 มิลลิลิตร ก่อน start HD เพื่อปั่นแยก serum เก็บ -70°C <input type="checkbox"/> เลือดก่อนเริ่ม HD ส่ง BUN, Cr, albumin, electrolyte, CBC, CRP, calcium, phosphate
<i>นาที่ที่ 5</i> <i>(no UF)</i>	<input type="checkbox"/> เลือดที่ sampling port แดง เพื่อปั่นแยก serum เก็บ -70°C <input type="checkbox"/> เลือดที่ sampling port น้ำเงิน เพื่อปั่นแยก serum เก็บ -70°C
<i>นาที่ที่ 10</i> <i>(no UF)</i>	<input type="checkbox"/> เลือดที่ sampling port แดง ส่ง albumin ที่ BFR _____ มิลลิลิตร/นาที่ <input type="checkbox"/> เลือดที่ sampling port น้ำเงิน ส่ง albumin <input type="checkbox"/> Effluent dialysate เก็บ 5 นาที ส่ง albumin ที่ DFR _____ มิลลิลิตร/นาที่
<i>Post</i>	<input type="checkbox"/> เลือด clot blood 20 มิลลิลิตร หลัง HD โดยวิธี slow flow stop pump เพื่อปั่นแยก serum เก็บ -70°C <input type="checkbox"/> เลือดหลัง HD โดยวิธี slow flow stop pump ส่ง BUN, Cr, albumin, CBC, electrolyte, CRP, calcium, phosphate
<i>24-hr</i>	<input type="checkbox"/> เลือด clot blood 20 มิลลิลิตร หลัง HD 24 hr เพื่อปั่นแยก serum เก็บ -70°C

Predialysis data: น้ำหนักตัวผู้ป่วยก่อนฟอก _____ กิโลกรัม

BT _____ °C BP _____ HR _____ RR _____

APACHE II Score _____ SOFA Score _____

Inotropic drug(s) _____ Dose _____

BUN _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร Cr _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร Albumin _____ g%

Na _____ K _____ Cl _____ HCO₃ _____ mEq/ลิตร, CRP _____ มิลลิกรัม/ลิตร

Ca _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร, PO₄ _____ มิลลิกรัม/เดซิลิตร

Hct____%, Hb____กรัม/เดซิลิตร

WBC____x10³/μL(N____L____M____E____%) Platelet____x10³/μL

Dialysis data: (แนบสำเนา Dialysis Sheet ด้วย)

ระยะเวลา____ชั่วโมง Net UF____มิลลิลิตร

BFR____มิลลิลิตร/นาที DFR____มิลลิลิตร/นาที

Complication_____

Postdialysis น้ำหนักตัวผู้ป่วยหลังฟอก____กิโลกรัม

BT____°C BP____ HR____ RR____

BUN____มิลลิกรัม/เดซิลิตร Cr____มิลลิกรัม/เดซิลิตร Albumin____g%

Na____K____Cl____HCO₃____mEq/ลิตร, CRP____มิลลิกรัม/ลิตร

Ca____มิลลิกรัม/เดซิลิตร, PO₄____มิลลิกรัม/เดซิลิตร

Hct____%, Hb____กรัม/เดซิลิตร

WBC____x10³/μL(N____L____M____E____%) Platelet____x10³/μL

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นาย วิวัฒน์ จันเจริญฐานะ

วัน เดือน ปีเกิด 4 พฤษภาคม พ.ศ. 2521 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นักศึกษาแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2540-2546
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลอุดรดิตถ์	2546-2547
แพทย์ที่เลี้ยงอายุรศาสตร์ปีที่ 2 – 3 โรงพยาบาลอุดรดิตถ์	2547-2549
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา	2549-2552
กำลังศึกษาอายุรศาสตร์ต่อยอดสาขาวิชาโรคไต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2552–ปัจจุบัน

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2546
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2552

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

- สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย
- สมาชิกสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย
- สมาชิกสมาคมปลูกถ่ายอวัยวะแห่งประเทศไทย
- สมาชิกแพทยสภา